

Connaître, évaluer, protéger

Moisissures dans le bâti

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Juin 2016 Édition scientifique

Avis et rapport révisés en octobre 2016



Moisissures dans le bâti

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Juin 2016 Édition scientifique

Avis et rapport révisés en octobre 2016



La direction générale

Maisons-Alfort, le 19 octobre 2016

AVIS révisé
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

relatif aux moisissures dans le bâti
annule et remplace l'avis du 20 juin 2016[1]

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.
L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.
Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

L'Anses a été saisie le 14 janvier 2014 par la Direction générale de la santé (DGS) et la Direction générale de la prévention des risques (DGPR) sur la problématique de développement des moisissures et la production associée de mycotoxines dans le bâti.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Depuis plusieurs années, une attention croissante est portée à la question de la qualité de l'air intérieur dans les bâtiments avec en particulier la mise en place d'une surveillance progressivement obligatoire dans certains établissements recevant du public (ERP).

En octobre 2013, les ministères chargés de l'écologie et de la santé ont lancé le Plan d'actions sur la qualité de l'air intérieur lors des deuxièmes assises nationales de la qualité de l'air. Reprenant les préoccupations exprimées lors de la table ronde Santé-Environnement de la Conférence Environnementale de septembre 2012, ce plan prévoit des actions à court, moyen et long terme afin d'améliorer la qualité de l'air dans les espaces clos. Celles-ci ont été intégrées dans le troisième Plan national santé-environnement (PNSE 3) et constituent le volet sur l'air intérieur dans la continuité des précédents Plans nationaux santé environnement (PNSE 2004-2008 et 2009-2013).

Dans ce cadre, un état des connaissances sur l'exposition de la population aux moisissures présentes dans l'air intérieur a été demandé à l'Anses. La demande porte plus particulièrement sur les 4 axes suivants :

- Connaissance des effets sur la santé liés aux moisissures ;

[1] Voir Annexe 2.

- Etat de l'art des méthodes de mesure des moisissures dans l'air intérieur, les poussières déposées au sol et les matériaux ;
- Appréciation des bâtiments concernés (type de bâtiment, nombre, paramètres de développement des moisissures, etc.) ;
- Appréciation des populations exposées et/ou à risque (prévalence, évaluation qualitative de l'exposition, populations sensibles).

La problématique des moisissures dans le bâti est large et peut être appréhendée sous différents angles d'approche selon le type de « bâti », le type de « population » (enfants, personnes âgées, etc.) ; la zone géographique ou le contexte socio-économique.

Afin de délimiter le champ de l'expertise, il a été demandé à la DGS et la DGPR de faire part de leurs priorités.

Ainsi, l'expertise devait, en priorité, porter sur les logements, d'une part en raison du temps passé à l'intérieur de ceux-ci et d'autre part, en raison de la disponibilité de données de contamination (campagne de l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur (OQAI)). Devaient être considérés en second lieu, les établissements recevant du public (ERP) visés par la surveillance de la qualité de l'air intérieur avec en priorité ceux accueillant des enfants et les établissements d'enseignement (ERP visés au 1°, 2° et 3° du R. 221-30 du Code de l'environnement). Puis, pouvaient être étudiés les autres ERP visés par le dispositif de surveillance.

L'expertise devait permettre de dresser un état des lieux global des bâtiments concernés ne se restreignant pas aux habitats dégradés ni aux personnes en situation précaire. La saisine concerne la France, mais la priorité est donnée dans la présente expertise à la France hexagonale. La situation à l'outre-mer devra en raison de la nature de l'habitat et des problématiques fongiques en jeu faire l'objet d'une expertise spécifique ultérieure.

Si la saisine cible spécifiquement les risques liés à l'exposition de la population générale, la revue des effets sanitaires liés aux moisissures prend néanmoins en considération les pathologies associées à des expositions dans le cadre professionnel.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisé (CES) « Evaluation des risques liés aux milieux aériens ». L'Anses a confié l'expertise à un groupe de travail dédié. Les travaux ont été présentés au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques entre février 2014 et avril 2016. Ils ont été adoptés par le CES « Evaluation des risques liés aux milieux aériens » réuni le 14 avril 2016.

Les travaux d'expertise conduits s'appuient sur une synthèse et une analyse critique des données publiées dans la littérature (articles scientifiques, rapports institutionnels, normes sur la mesure).

La collecte des informations nécessaires à la réalisation de cette expertise s'est également appuyée sur l'audition de différentes parties prenantes notamment associatives et institutionnelles afin de recueillir leurs expériences et leurs attentes sur la problématique de la contamination des logements par les moisissures. Trois thématiques ont été retenues pour l'organisation d'auditions sous la forme de débats réunissant plusieurs acteurs rattachés à chaque thème :

- « Santé »
- « Procédures administratives »

- « Intervention dans le bâti »

Le recueil de données auprès des Agences régionales de santé (ARS) a été réalisé en lien avec leurs activités notamment dans le cadre des Plans régionaux de santé-environnement (PRSE) et de leurs missions de lutte contre l'habitat insalubre régie par le code de la santé publique (articles L.1311-4, L1331-22 à L.1331-31).

Enfin, une consultation internationale des agences ou autorités nationales dans les domaines de la sécurité sanitaire et/ou du travail (Europe, Amérique du Nord) a été conduite afin de connaître les pratiques mises en œuvre à l'étranger liés à une exposition aux moisissures dont la réglementation applicable, ainsi que pour identifier les axes de recherche et développement dans ce domaine (métrologie, exposition, toxicologie ou épidémiologie).

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.
Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT ET DU CES

Le terme « moisissures » fait référence dans le langage courant aux taches apparaissant entre autres sur les aliments ou dans l'habitat, correspondant à un stade avancé de développement de champignons microscopiques. Des conditions favorables sont nécessaires pour leur développement dans les environnements intérieurs, notamment la présence d'humidité dans différents éléments du bâti (les cloisons, la matière isolante, les faux plafonds,…) qui peuvent être de natures différentes (carton, papier, tissu…).

Il existe une très grande variété d'espèces fongiques (probablement plusieurs millions) qui se développent dans différentes conditions. Les moisissures produisent des structures de reproduction appelées spores ou conidies qui, une fois libérées, se retrouvent principalement en suspension dans l'air et assurent la dispersion des moisissures. En mycologie, le mode de production des spores, observé directement au microscope, est le principal élément d'identification des genres et espèces fongiques. Les moisissures sont aussi capables de synthétiser des substances chimiques (mycotoxines, composés organiques volatils microbiens (COVm)) qui sont contenues dans les spores ou libérées directement dans l'air.

- **Effets sur la santé des moisissures présentes dans les environnements intérieurs**

Données épidémiologiques : Les effets sanitaires de l’exposition aux moisissures présentes dans les environnements intérieurs ont été étudiés essentiellement chez l’enfant. Les données chez l’adulte sont peu nombreuses.

Concernant les effets respiratoires, les résultats de l’expertise confortent les conclusions des revues de l’Institute of medicine (IOM) et de l’Organisation mondiale de la santé (OMS) publiées respectivement en 2004 et 2009. L’association entre l’exposition aux moisissures et la survenue d’effets respiratoires est confirmée essentiellement pour *l’asthme de l’enfant*. La présence observée de moisissures dans les pièces à vivre et l’odeur de moisi, étudiées conjointement ou non avec l’humidité, sont associées au développement de l’asthme chez le jeune enfant avec des arguments forts suggérant la causalité. L’exposition à *Penicillium* (mis en évidence en culture après prélèvements d’air) est associée à *l’aggravation des symptômes respiratoires.*

. En population générale, les données épidémiologiques ne permettent pas de conclure sur l’association entre l’exposition aux moisissures dans les environnements intérieurs et le risque d’asthme chez l’adulte. Néanmoins, les études concernant les *adultes exposés sur leur lieu de travail* (bâtiments ayant connu d’importants dégâts des eaux) indiquent l’existence d’une association entre l’exposition à l’humidité et aux moisissures et *l’incidence et la prévalence de l’asthme*. La plupart de ces données proviennent de la Finlande, suite à la reconnaissance, de l’asthme induit par l’exposition à l’humidité et aux moisissures sur le lieu de travail comme maladie professionnelle.

Pour la rhinite, l’existence d’une association entre l’exposition aux moisissures visibles et le risque de *rhinite allergique* a été établie mais d’autres études longitudinales sont nécessaires pour apprécier la causalité.

Concernant les *effets neurologiques*, de premières données suggèrent une association entre l’exposition de longue durée aux moisissures (> 2 ans) des enfants dès la petite enfance et l’altération de la fonction cognitive.

Le syndrome du bâtiment malsain[2] et les effets psychologiques, autres effets étudiés en population générale, sont peu documentés.

Enfin, les études épidémiologiques présentant une caractérisation quantitative des expositions sont hétérogènes (diversité des méthodes de mesure) et ne permettent pas de définir un seuil sanitaire[3].

Données toxicologiques : Les données recensées sont complémentaires des conclusions présentées dans les rapports d’études antérieurs (OMS 2009 ; IOM 2004). Les études chez l’animal analysées permettent de conforter :

- le rôle central des réponses inflammatoires dans l’induction d’effets respiratoires,
- l’importance du statut sensibilisé/non sensibilisé dans l’intensité de la réponse inflammatoire,
- l’induction d’effets cytotoxiques liés à une exposition aux métabolites fongiques,
- le pouvoir immunosuppresseur des β-glucanes.

Le rôle potentiel d’une exposition aux moisissures dans le développement ou l’exacerbation des allergies respiratoires et notamment de l’asthme est décrit dans les études : induction et augmentation d’une hyperréactivité bronchique, exacerbation des symptômes asthmatiformes.

[2] Le syndrome des bâtiments malsains ou « Sick Building Syndrom » (SBS) est un ensemble de symptômes non spécifiques touchant la peau, les muqueuses, le système respiratoire et/ou le système nerveux central.

[3] Un seuil sanitaire correspond à un niveau de concentration en dessous duquel aucun effet sur la santé n’est attendu pour la population générale

L'implication de la sensibilisation aux moisissures dans la sévérité des réponses inflammatoires et allergiques pulmonaires est également observée dans plusieurs études. Certaines études proposent des estimations du seuil d'allergénicité en lien avec l'exposition des animaux par voie respiratoire aux moisissures et il s'avère que la relation dose réponse pour le déclenchement de la réponse allergique est propre à chaque couple espèce-hôte. L'interprétation des résultats observés dans les études chez l'animal en vue d'une transposition aux expositions humaines est soumise à plusieurs limites (niveaux d'exposition, différences de sensibilité inter-espèces, différences méthodologiques comme le protocole de sensibilisation des animaux).

La plupart des données toxicologiques disponibles concernent les effets induits par l'espèce *Stachybotrys chartarum* et ses toxines, y compris des effets extra-respiratoires (potentiel génotoxique, effets hématotoxiques, effets cardiovasculaires et effets neurosensoriels).

En se référant à la classification du niveau de preuve utilisée par l'OMS et l'IOM, le tableau ci-dessous confronte les conclusions de la présente expertise avec celles de ces 2 organismes.

Résumé des conclusions de l'IOM (2004), de celles de l'OMS (2009) et de la présente expertise concernant les liens entre la présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements humides et la survenue d'effets sur la santé

Effet sanitaire	**Conclusions de l'IOM (2004)** Présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements humides et survenue d'effets sanitaires **Analyse des études épidémiologiques principalement transversales parues jusqu'à fin 2003**	**Conclusions de l'OMS (2009)** Environnements humides et survenue d'effets respiratoires **Analyse des données épidémiologiques principalement transversales parues de mi 2003 à 2007**	**Conclusions de la présente expertise** Exposition aux moisissures et survenue d'effets sanitaires **Analyse des méta-analyses, revues systématiques et études longitudinales parues de 2007 à 2015**	
			Chez l'enfant	**Chez l'adulte**
Développement d'asthme	***Preuves suffisantes d'une association :*** Sifflements ***Preuves limitées d'une association :*** Pathologies des voies respiratoires inférieures chez les enfants en bonne santé ***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Développement d'asthme Pathologies des voies respiratoires inférieures chez les adultes en bonne santé	***Preuves suffisantes d'une association :*** Développement d'asthme Respiration sifflante Asthme actuel ***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Asthme toujours	***Preuves suffisantes d'une relation causale***	***Preuves suffisantes d'une association*** : asthme lié à l'exposition sur le lieu de travail ***Preuves limitées d'une association*** chez l'adulte en population générale
Exacerbation de l'asthme	***Preuves suffisantes d'une association :*** symptômes d'asthme chez les personnes asthmatiques sensibilisées	***Preuves suffisantes d'une association***		
Rhinite allergique	Non évalué individuellement ***Preuves suffisantes d'une association :*** Symptômes des voies aériennes supérieures (maux de gorge, conjonctivite, rhinite allergique et symptômes d'irritation des voies nasales tels que congestion ou écoulements)	***Preuves suffisantes d'une association :*** Symptômes des voies aériennes supérieures ***Preuves limitées d'une association :*** Rhinite allergique ***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Allergie ou atopie	***Preuves suffisantes d'une association***	
Autres effets respiratoires	***Preuves suffisantes d'une association :*** Pneumopathie d'hypersensibilité chez les personnes sensibles pour les bactéries et moisissures des environnements intérieurs Toux ***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Dyspnée (difficulté à respirer) Obstruction des voies respiratoires (chez des individus en bonne santé) Syndrome d'irritation des muqueuses Broncho-pneumopathie chronique obstructive Fièvres d'inhalation (expositions non professionnelles)	***Preuves suffisantes d'une association :*** Toux Dyspnée Infections respiratoires ***Preuves limitées d'une association :*** Bronchites ***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Altération de fonction pulmonaire	Non évalué individuellement	
Effets neurologiques	***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Symptômes neuropsychiatriques	Non évalué	***Preuves limitées d'une association*** : Altération de la fonction cognitive chez l'enfant pour des expositions de longue durée (> 2 ans) aux moisissures dès la petite enfance	
Effets psychologiques			***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Syndrome du bâtiment malsain Effets psychologiques	
Autres effets	***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Troubles rhumatologiques et autres maladies du système immunitaire Hémorragie pulmonaire idiopathique aiguë chez les nourrissons (hémosidérose) Symptômes d'irritation cutanée Troubles gastro-intestinaux Fatigue Cancer Effets sur la reproduction	Non évalué	Non évalué	

Preuves suffisantes d'une relation de cause à effet : *Les preuves disponibles sont suffisantes pour conclure qu'un lien de causalité existe entre la présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements intérieurs humides et l'effet observé ; cela signifie que l'exposition peut être responsable de l'effet en question, à minima chez certaines personnes, dans certaines circonstances.*
Les critères suivants doivent être satisfaits : force de l'association, relation dose-effet, plausibilité et cohérence biologique de l'association, temporalité de l'association.
Preuves suffisantes pour établir une association : *Les preuves disponibles sont suffisantes pour conclure qu'il existe une association entre la présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements intérieurs humides et l'effet en question ; le rôle du hasard, des biais et des facteurs de confusion dans l'association observée a pu être exclu avec un niveau de confiance suffisant.*
Preuves limitées suggérant une association : *Les preuves disponibles suggèrent l'existence d'une association entre la présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements intérieurs humides et l'effet en question ; le niveau de preuve est limité par le fait que le rôle hasard, des biais et facteurs de confusion dans l'association observée ne peut être exclu avec suffisamment de confiance.*
Preuves inadéquates ou insuffisantes pour établir une association : *Les études disponibles sont de qualité insuffisante, manquent de cohérence ou présentent une puissance statistique trop faible pour permettre de conclure quant à l'existence ou non d'une association. Voire, aucune étude de l'association en question n'existe.*

- **Méthodes de mesure des moisissures dans les environnements intérieurs**

De nombreuses méthodes qualitatives ont été identifiées afin d'évaluer la contamination par les moisissures, que ce soit à visée de gestion ou de recherche : estimation d'étendue de surface, identification d'une odeur de moisi, présence d'humidité, développement d'indices de contamination basés sur les émissions de composés organiques volatils (COV). Il existe également une multitude de méthodes de mesures quantitatives tant en termes de prélèvement (surface, air, poussières, matériaux) que d'analyse. Elles peuvent cibler aussi bien le champignon lui-même, que ses composants ou les substances émises. Cette multiplicité induit une complexité dans la caractérisation de l'exposition et représente une limite majeure pour la standardisation et la validation de ces méthodes, ainsi que pour la détermination de seuils en vue de prévenir la survenue d'effets sanitaires, compte tenu par ailleurs de la diversité biologique des organismes fongiques.

La réalisation de prélèvements d'air, de surface et de matériaux a récemment fait l'objet de normes internationales reprises au niveau national. Concernant les systèmes de prélèvement d'air, peu de changements ont été constatés sur les 10 dernières années selon la littérature ; les systèmes par impaction en milieu solide sont les plus utilisés mais reposent sur des durées d'échantillonnage courtes. De nouveaux appareils reposant notamment sur la collecte des spores en milieu liquide ont été proposés ces dernières années et permettent à la fois la réalisation de prélèvements sur un pas de temps plus long et une récupération directe de l'échantillon liquide autorisant une diversité d'analyses en aval. Les systèmes de prélèvements de surfaces ou de matériaux (adhésif, boîte « contact », écouvillon) n'ont pas évolué et se limitent à une caractérisation des zones prélevées.

Concernant les prélèvements de poussières, des capteurs électrostatiques basés sur le recueil de poussières par sédimentation passive sont venus compléter les dispositifs préexistants de prélèvement des poussières par aspiration. Il s'agit d'un système de prélèvement simple à mettre en place sur le terrain sur de longues durées et peu coûteux. Cependant les données actuellement disponibles sont trop peu nombreuses pour permettre d'interpréter les résultats et le dispositif doit par ailleurs faire l'objet d'une évaluation complète pour validation.

L'analyse par culture, à partir de prélèvements d'air, de surfaces, de matériaux ou de poussières, est la plus utilisée et nécessite une expertise pour l'identification morphologique des espèces. Elle fait aussi l'objet d'une norme qui devrait d'une part permettre une harmonisation des méthodes et, d'autre part faciliter l'agrégation et la comparaison des données produites par l'ensemble de la communauté scientifique au niveau international. D'autres techniques analytiques plus récentes, la spectrométrie de masse MALDI-TOF et l'identification moléculaire par séquençage sont proposées pour l'identification des espèces. Elles permettent de s'affranchir en partie de cette expertise mais sont peu répandues et soumises à la qualité des bases de données de référence. En effet, un biais pour l'identification existe en raison de la compétition entre les espèces cultivables sur le milieu gélosé notamment du fait de la variabilité des conditions de développement des espèces fongiques. Les principaux développements analytiques s'appuient sur les récents progrès des techniques de biologie moléculaire qui permettent de mettre en évidence les espèces non cultivables et les cellules mortes (non revivifiables) mais potentiellement allergisantes. Ils reposent essentiellement sur la mise en œuvre de méthodes de réaction en chaine par polymérase (PCR) en temps réel pour la détection et la quantification d'espèces ciblées. Cette technique d'amplification des acides nucléiques nécessite l'utilisation d'amorces spécifiques, supposant un choix préalable des espèces à détecter. A l'inverse, les approches métagénomiques (NGS) permettent de recenser l'ensemble des espèces et de caractériser la diversité fongique sans *a priori* mais ne sont pour l'instant pas applicables en routine et requièrent des compétences en bio-informatique.

Les méthodes non spécifiques (béta-D-glucanes, nez électronique, ATPmétrie, NAHA, comptage particulaire, COVm) ont été peu utilisées ces dernières années car elles ne donnent pas

d'informations sur les espèces présentes et ne sont pas toujours corrélées à la contamination globale d'un environnement.

Concernant les méthodes spécifiques, certaines ont disparu (sédimentation sur boîte, impaction sur support adhésif et précipitation électrostatique) et d'autres présentent des performances moindres et des perspectives limitées de développement (analyse de biologie moléculaire par gel (DHPLC, DGGE, …)). Les récents développements tant en termes de prélèvement (impaction en milieu liquide, capteurs électrostatiques) que d'analyse (techniques de biologie moléculaire) ouvrent des perspectives intéressantes de recherche pour la caractérisation de la flore fongique à mettre en relation avec des données de santé.

- **Connaissances sur la situation et les facteurs favorisant le développement des moisissures dans le bâti**

L'état des lieux sur la situation française s'appuie sur les données de différentes enquêtes s'intéressant aux logements et documentant la contamination fongique par la recherche de signes apparents comme la peinture boursoufflée, des taches au plafond ou sur le bas des murs, une odeur d'humidité ou de moisi dans un bâtiment. La présence de moisissures visibles dans les logements français varie de 14 à 20% selon les sources. En Europe et Amérique du Nord, il est estimé qu'au moins 20% des logements sont concernés par la présence de moisissures.

Pour aller plus loin que l'observation visuelle, l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur (OQAI) dispose de données pour différents paramètres permettant d'évaluer le développement des moisissures dans les logements, les bâtiments performants en énergie et les écoles. L'analyse des données de la campagne nationale Logement ainsi que les données de la littérature ont permis d'appréhender les déterminants de la contamination fongique et de l'exposition aux moisissures dans les logements.

Une appréhension globale des enjeux techniques en lien avec le bâti est nécessaire afin d'expliquer le développement de moisissures dans les environnements intérieurs. Les points critiques sont la ventilation, l'isolation et le chauffage sur lesquels il convient d'agir de façon globale.

Les phénomènes relatifs à la présence d'humidité dans les enveloppes de bâtiments et les systèmes de ventilation (condensation ou intrusion parasite (fissures, remontée capillaires, etc.)) sont à l'origine de l'apparition de moisissures. Les paramètres de température de paroi et de surpression/ dépression d'air sont aussi très importants et doivent être considérés en parallèle.

Les travaux expérimentaux concernent principalement la nature des matériaux favorables à la prolifération des moisissures ainsi que la modélisation permettant de prédire la croissance des moisissures. Les matériaux contenant de la cellulose constituent des supports propices au développement de moisissures ainsi que d'autres substrats bio-utilisables : papiers peints, plaques de plâtre, produits de construction avec des matières premières facilement dégradables, joints à élasticité permanente, etc.

Aucune solution pragmatique de prévention et de remédiation n'est proposée dans la littérature. Chaque élément est étudié distinctement et les phénomènes d'interaction macroscopique (ponts thermiques, défauts d'enveloppe, absence ou mauvais dimensionnement ou régulation de la ventilation etc.) ne font que très peu partie des thématiques de recherche en lien avec les moisissures dans les environnements intérieurs.

Une amélioration des connaissances des acteurs du bâtiment concernant l'identification des causes et la proposition d'interventions efficaces afin de supprimer ou réduire l'humidité et les moisissures dans le bâti devraient figurer dans les priorités de l'action publique française. Une attention particulière est à porter sur deux problématiques de terrain : la mise en chantier des bâtiments neufs et la rénovation de l'ancien.

- **Caractérisation de groupes de populations à risque**

Un focus sur les groupes d'individus les plus à risque en termes d'effets sanitaires par rapport à la problématique des moisissures dans les environnements intérieurs a été réalisé dans cette expertise en considérant leur sensibilité individuelle ou un risque de surexposition de par leurs caractéristiques socio-économiques.

Cette expertise souligne les inégalités sociales de santé engendrées par des conditions de logement dégradées ne se limitant pas à l'exposition aux moisissures. Les caractéristiques socio-économiques des occupants d'un logement, conduisant à une précarité énergétique ou une sur-occupation du logement, sont des éléments majeurs. Par exemple, les familles monoparentales ou les ménages disposant de revenus faibles font parties des populations pour lesquelles la problématique des moisissures est la plus fréquemment rencontrée. D'autres éléments peuvent jouer un rôle substantiel tel que l'usage du logement (gestion des ordures, animaux…), ou encore la situation géographique avec des différences d'espèces fongiques les plus présentes dans les logements selon les régions, en France comme aux Etats-Unis où des études ont été conduites.

Au regard des sensibilités proprement dites vis-à-vis d'une exposition aux aérobiocontaminants fongiques, les enfants, les personnes asthmatiques, atopiques ou présentant une hypersensibilité, les patients immunodéprimés ou atteints de pathologies respiratoires chroniques (BPCO) sont davantage susceptibles de développer des pathologies lorsqu'ils sont exposés aux moisissures que le reste de la population, ce risque étant conditionné par leur état physiologique ou leur statut immunologique. Une vigilance particulière est nécessaire vis-à-vis de ces populations à risque.

- **Gestion du risque sanitaire lié aux moisissures dans l'habitat à l'international et en France**

Au niveau international, il existe dans certains pays un cadre réglementaire et des orientations de politiques publiques permettant en partie de faire face à l'humidité et à la présence de moisissures dans les environnements intérieurs. Les exemples des pays nordiques étudiés sont riches d'enseignements illustrant les caractéristiques réglementaires et les modes d'intervention possibles. Par exemple, la Suède a rendu obligatoire le contrôle de la ventilation dans le logement tous les 3 ans depuis 2006 et projette la mise en place d'une inspection et d'une déclaration obligatoire par un expert certifié du niveau d'humidité et de la présence de moisissures lors des transactions immobilières.

Pour la caractérisation de la contamination des logements par des moisissures, deux démarches se distinguent à l'international : la première reposant sur la réalisation de prélèvement et d'analyse par culture, et la seconde sur la prévention et la remédiation des problèmes de développement des moisissures sans réalisation de mesures :

1. Des valeurs guides pour les moisissures variant de 100 à 1000 UFC.m^{-3} ont été proposées dans les années 1980 et 1990 soit par des organismes gouvernementaux ou institutionnels, soit par des organisations professionnelles privées ou des experts. La concentration dans l'air intérieur en flore fongique de 1000 UFC.m^{-3} ressort comme une concentration pouvant être qualifiée d'anormale du fait d'une contamination potentielle nécessitant des investigations. Ce niveau correspond aussi à la valeur du 95ème percentile des niveaux moyens compilés à partir des données de la littérature suite à des prélèvements d'air par impaction et analyse par culture recensées dans le cadre de cette expertise. Un exemple de mise en place d'une réglementation relative à l'identification de la présence de moisissures dans l'air intérieur a été communiqué par le Portugal reposant sur des niveaux de concentration à respecter en fonction des espèces considérées suite à des prélèvements et analyse par culture.

2. Lorsque la réalisation de mesures n'est pas recommandée, des guides fournissent des préconisations ou règles susceptibles d'aider à l'évaluation et à la remédiation de la

contamination. Différents niveaux de surfaces moisies ont été également proposés et associés à la mise en œuvre de mesures de remédiation. Pour les référentiels de l'OMS, du Canada, et de la ville de New York, 3 niveaux sont proposés : niveau faible, une surface maximale comprise entre 0,3 et 1m² ; niveau moyen, une surface comprise 1 et 3 m² ; niveau le plus élevé une surface de 3 à 9,3 m². Dans le rapport du Conseil supérieur d'hygiène publique de France (CSHPF) publié en 2006, les niveaux proposés sont similaires à ceux de l'OMS, avec un niveau très faible supplémentaire (<0,03 m² soit environ ½ feuille A4).

En France, la règlementation est axée sur la gestion globale de l'habitat sans exigence spécifique concernant la contamination par des moisissures. Différentes notions d'habitat sont définies par la réglementation : habitat insalubre, indigne et indécent. Ces notions ont été élaborées dans des objectifs distincts et impliquent des responsables et acteurs différents. C'est un domaine complexe, avec de nombreux acteurs impliqués où les responsabilités sont souvent mal définies et associées à des difficultés de travail en commun et d'échanges entre les acteurs sur un même territoire.

D'après les retours du terrain, dans le cadre des missions de lutte contre l'habitat insalubre, l'évaluation d'un problème de contamination par des moisissures est réalisée principalement par une inspection visuelle lors de la visite d'un logement par un personnel de l'Agence régionale de santé (ARS) (technicien ou ingénieur sanitaire) ou par un personnel de service communal d'hygiène et santé (SCHS) ou un Conseiller en environnement intérieur (CEI). Cette évaluation constitue en général un paramètre parmi de nombreux items pour caractériser l'insalubrité. Une action complémentaire a été mise en œuvre dans quelques régions françaises[4] associant les acteurs publics et des conseillers (Conseiller en environnement intérieur/ Conseiller Habitat Santé) pour l'évaluation des logements. Ainsi, les conseillers peuvent réaliser des prélèvements de moisissures via des scotch-tests ou des écouvillonnages sur les surfaces moisies, et via des bio-impacteurs pour l'analyse de l'air intérieur.

Sur la base des retours du terrain, il ressort que les compétences des professionnels chargés d'évaluer la contamination fongique dans l'habitat sont hétérogènes et/ou insuffisantes ; une définition et une harmonisation des qualifications requises sont nécessaires.

Les travaux de remédiation d'humidité et de moisissures échouent régulièrement par manque de formation des professionnels du bâti dans ce domaine et du fait de l'incapacité ou de la réticence des propriétaires à consacrer les moyens financiers nécessaires.

D'une manière générale, le niveau de connaissances vis-à-vis de la problématique des moisissures des différents acteurs professionnels impliqués dans la prévention du développement de contaminations fongiques (domaines de la construction, de la rénovation et de la remédiation) et/ou dans la prise en charge des risques pour les populations exposées (professionnels de santé, acteurs sociaux pour le signalement ; professionnels chargés d'apprécier la contamination fongique du bâti) est un facteur clé pour la réduction de l'exposition aux moisissures et des effets sanitaires associés.

[4] Avant la mise en application de la réforme territoriale

- **Conclusions du CES**

Le CES Air souligne que l'exposition aux moisissures dans les environnements intérieurs représente un enjeu majeur de santé publique du fait de la part importante de logements concernés (entre 14 et 20% selon les sources), des effets avérés sur la santé respiratoire et de l'identification de populations à risque. Sur la base des résultats de l'expertise, le CES Air conclut que :

- De nombreuses méthodes existent afin d'évaluer la contamination fongique. Elles incluent la prise en compte de l'étendue de surface contaminée, des méthodes plus sophistiquées soit culture-dépendantes soit culture-indépendantes, et des indicateurs de contamination tels que la perception d'odeur de moisi, la mesure de l'humidité, etc. Il n'existe pas à l'heure actuelle de consensus sur le choix d'une d'entre elles, et ce, que ce soit à visée de gestion ou de recherche.
- Il existe des normes internationales (ISO 16000-16 à 21) déclinant des exigences en termes de prélèvements d'air, de surface et de matériaux ainsi que de dénombrement par culture. Leur utilisation systématique permettrait une harmonisation des méthodes, et faciliterait l'agrégation et la comparaison des données produites par l'ensemble de la communauté scientifique.
- Les récents développements, tant en termes de prélèvement (cyclone liquide, capteurs électrostatique) que d'analyse (techniques de biologie moléculaire), ouvrent des perspectives intéressantes pour la caractérisation de la flore fongique.
- Les travaux antérieurs de l'OMS (2009) et l'IOM (2004) ont conclu sur l'association entre l'exposition aux moisissures et la survenue de symptômes respiratoires. Plus spécifiquement, et d'après les données postérieures à ces travaux, l'association entre l'exposition aux moisissures et la survenue d'effets respiratoires est établie essentiellement pour le développement et l'exacerbation de l'asthme chez l'enfant avec des arguments forts suggérant la causalité.
- L'exposition à l'humidité et aux moisissures sur le lieu de travail (bâtiments ayant connu des dégâts des eaux) est associée à l'incidence de l'asthme chez l'adulte. L'extrapolation de cette association à d'autres lieux de vie concernant l'exposition de la population générale est retenue compte tenu des connaissances scientifiques actuelles et en dépit des incertitudes et limites associées à ces études.
- Il existe une association entre l'exposition aux moisissures et le risque de rhinite allergique, mais d'autres études longitudinales sont nécessaires pour conclure sur la causalité.
- Il n'est pas possible en l'état actuel des connaissances de définir un seuil sanitaire en dessous duquel aucun effet sur la santé n'est attendu pour la population générale. En effet, d'une part il existe une grande diversité d'indicateurs d'exposition mis en relation avec la survenue d'effets avec des résultats contradictoires, et d'autre part les mécanismes d'action mis en jeu et les sensibilités sous-jacentes des individus dans le cas des symptômes respiratoires (notamment le terrain immuno-allergique) sont complexes à appréhender.
- Des populations à risque ont été identifiées. Il s'agit de :
  - Populations potentiellement surexposées du fait de caractéristiques socio-économiques défavorables comme par exemple la précarité énergétique ou une sur-occupation du logement ;

  - Populations présentant une sensibilité individuelle du fait de leur état physiologique ou de leur statut immunologique : personnes aux âges extrêmes de la vie, présentant une pathologie pré-existante, un terrain atopique ou une déficience de leur système immunitaire.

- Le développement de moisissures dans les environnements intérieurs dépend notamment d'enjeux techniques en lien avec le bâti comme la ventilation, l'isolation et le chauffage, à considérer de façon globale.

- Les pays nordiques présentent des politiques publiques volontaristes sur la problématique des moisissures. Par exemple, depuis 2006, la Suède a rendu obligatoire le contrôle de la ventilation des logements tous les trois ans et projette de confier à des experts certifiés, l'inspection obligatoire lors des transactions immobilières.

- En France, la problématique des moisissures fait référence à de multiples acteurs intervenant dans le domaine de l'habitat. Différentes notions d'habitat dégradé, élaborées dans des objectifs distincts, sont définies par la réglementation : habitat insalubre, indigne et indécent. Ceci implique des responsables et acteurs différents sans exigences spécifiques concernant la prise en compte de la contamination de l'habitat par des moisissures.

■ Recommandations du CES

Compte tenu des conclusions rapportées ci-dessus, le CES Air estime nécessaire de formuler des recommandations en matière de prévention et propose des pistes de gestion.

I. Recommandations concernant la prévention du développement de contaminations fongiques dans le bâti :

Le CES Air recommande en premier lieu la mise en place d'actions de formation et d'information afin de sensibiliser l'ensemble des professionnels impliqués dans les opérations liées aux bâtiments (conception, construction, rénovation et remédiation) à la problématique des moisissures.

Le CES Air souligne notamment la nécessité de sensibiliser les professionnels de la remédiation sur les risques sanitaires qu'ils encourent lors de leurs activités et de mettre en place des mesures de prévention afin de limiter leur exposition.

Les corps de métiers concernés incluent notamment les industriels, ingénieurs, architectes, bureaux d'étude techniques, entreprises, maitres d'œuvre et maitres d'ouvrage, artisans, etc. Il est nécessaire d'encourager ces différents acteurs à travailler de façon transversale avec une vision globale des enjeux techniques liés au bâti incluant l'isolation, la ventilation et le chauffage.

En s'appuyant notamment sur les retours de la consultation internationale et sur les auditions, le CES Air suggère les actions suivantes à inscrire dans la réglementation :

- Intégrer par exemple dans la prochaine réglementation thermique (RT 2020) le contrôle systématique du fonctionnement des systèmes de ventilation à la réception des travaux.

- Réaliser pour les nouvelles constructions, le contrôle de l'humidité relative et rechercher l'existence de ponts thermiques par la conduite de mesures *in situ* en phase habitée sur la première période d'hiver. Le taux d'humidité relative serait acceptable entre 40 à 60% (sur une plage de températures entre 18 et 22°C).

- Ajouter aux certificats énergétiques nécessaires dans les transactions immobilières, une déclaration concernant l'évaluation de l'efficacité de la ventilation et la présence ou non de moisissures.

- Rendre obligatoire un contrôle périodique de l'efficacité de la ventilation (état des grilles de ventilation, fonctionnement, valeur des débits, qualité de la filtration, par exemple).

- Etablir une certification ou un label professionnel pour l'expertise et le contrôle des travaux de rénovation au sein des logements avec une formation nationale obligatoire. Ces personnes certifiées réaliseraient le diagnostic de l'habitat et proposeraient d'une part des travaux avec une vision globale des éléments de conception notamment en intégrant les aspects d'isolation, de ventilation et de chauffage, et d'autre part le contrôle des bâtiments neufs ou rénovés par rapport au développement de moisissures.

- Rendre obligatoire l'évaluation de la vulnérabilité des matériaux de construction vis-à-vis du développement de moisissures avant leur mise sur le marché en s'appuyant sur les normes existantes. L'étiquetage des matériaux de construction pourrait alors être complété pour l'information des utilisateurs en aval. Une vigilance est nécessaire pour ne pas inciter les industriels à avoir recours à des produits biocides.

- Mettre en place des aides financières pour favoriser la réalisation de travaux d'isolation du logement dont l'octroi devra être conditionné à une évaluation préalable des besoins de ventilation et de chauffage associés.

Le CES Air préconise par ailleurs la mise en œuvre de mesures d'information à destination de la population générale afin de la rendre actrice de la prévention du développement de moisissures dans l'habitat. Dans ce cadre, le CES Air recommande :

- <u>Pour les propriétaires et copropriétaires :</u>

Qu'un cahier d'entretien et de maintenance des bâtiments et parties communes, le cas échéant, soit mis en place tant dans le parc public que privé.

- <u>Pour les occupants :</u>

Qu'un fascicule d'information présentant les règles d'utilisation et d'entretien soit délivré au moment de l'entrée dans l'habitation que ce soit lors de la location ou de l'achat d'un logement.

- <u>Pour les collectivités locales :</u>

Qu'un conseil technique visant à évaluer de manière concomitante les caractéristiques thermiques et hygrométriques du logement soit proposé aux concitoyens.

En terme d'action globale de communication par les pouvoirs publics, le CES suggère que :

- Des campagnes d'information sur la qualité de l'air intérieur dans le bâti en France avec un focus particulier sur la prévention du développement des moisissures soient réalisées par exemple via l'actualisation et la relance des actions de l'INPES[5].

- Des animations au niveau des territoires soient organisées sur l'enjeu de santé publique que représente l'exposition aux moisissures dans le bâti comme par exemple des ateliers, conférences, débats etc.

[5] http://www.prevention-maison.fr/

II. Recommandations concernant l'évaluation de l'exposition et la prise en charge du risque fongique pour les populations exposées

Le CES Air recommande :

- que l'exposition aux moisissures soit prise en compte explicitement dans la gestion de l'habitat en clarifiant les responsabilités des différents intervenants. En outre, les dispositifs réglementaires existants distinguant l'habitat insalubre, indigne et indécent devraient inclure une gestion harmonisée et explicite des moisissures.
- que tous les occupants aient un interlocuteur unique pour le signalement de la contamination fongique de leur logement en ciblant prioritairement les populations à risque ; par exemple par le biais de la mise à disposition d'une fiche de signalement standardisée en Mairie (interface en ligne disponible également) comme en Suède.
- qu'une formation des professionnels de santé et des acteurs sociaux soit proposée afin de les sensibiliser sur leur rôle dans le repérage, le signalement et la prise en charge notamment pour les personnes surexposées du fait de caractéristiques socio-économiques défavorables[6].

Concernant les stratégies de gestion destinées aux populations à risques, le CES Air rappelle que ces populations sont définies comme suit :

- Enfants ou adultes atteints de pathologies ou symptômes respiratoires chroniques (notamment asthme ou rhinite) ;
- Patients immunodéprimés à risque élevé d'infection fongique invasive à champignons filamenteux (hémopathie maligne, notamment allogreffe de moelle, transplantation d'organes) ;
- Enfants dès la naissance ;
- Populations à risque du fait d'une surexposition : en précarité énergétique ou vivant en sur-occupation.

Le CES Air propose pour ces populations :

- de déclencher, à l'appréciation des acteurs de santé et sociaux, des enquêtes à domicile suite à un signalement tenant compte :
  a. du contexte lié à l'habitat (présence de moisissures visibles, humidité, dégât des eaux ou odeur de moisi) et/ou
  b. du contexte médical (signes cliniques ou aggravation/exacerbation des symptômes, retour à domicile pour les patients immunodéprimés ayant subi une greffe) ;
- lors du déclenchement d'une enquête à domicile, de réaliser une évaluation des surfaces moisies et/ou des prélèvements pour une caractérisation de la flore fongique (surfaces, air, poussières) associée à une caractérisation de la diversité fongique. Les acteurs qui à l'heure actuelle peuvent réaliser cette enquête sont des acteurs publics (SCHS, ARS) ou conseillers (CEI ou Conseiller habitat santé). Le CES note qu'à l'heure actuelle, les dispositifs existants pour conduire la réalisation de prélèvements sont insuffisants.
- enfin, si l'évaluation de la contamination le justifie, de rechercher les causes de ce développement et d'y remédier avec un suivi du contrôle de l'efficacité.

[6] Personnes ayant en général des conditions de logement dégradées ne se limitant pas à l'exposition aux moisissures et pouvant être dans une situation d'isolement social

Le tableau en Annexe 1 complète ces recommandations en déclinant des approches spécifiques en fonction des populations à risque avec l'implication de différents acteurs potentiels.

Les logements contaminés par les moisissures de ces populations à risque devraient être intégrés dans la procédure d'insalubrité et un raccourcissement du délai pour la prescription de travaux et la substitution en cas de défaillance des propriétaires devrait être mis en œuvre en fonction de la population à risque considérée.

Concernant plus précisément l'évaluation de la contamination, le CES suggère les modalités suivantes :

- Observation de l'étendue des surfaces moisies cumulées au niveau des pièces d'habitation[7] (hors cave, grenier, garage…) :
  - < 0,2 m² (équivalent à 3 feuilles A4) : niveau faible de contamination - nettoyage par le particulier sauf pour les personnes atteintes de pathologies respiratoires chroniques et immunodéprimées[8] (étude de cohorte mettant en évidence une augmentation du risque d'asthme pour ce 3ème niveau de classification) ;
  - 0,2 – 3 m² : niveau moyen de contamination pour lequel une intervention de remédiation est nécessaire, de préférence par un professionnel du bâtiment ;
  - > 3 m² – critère d'insalubrité : niveau élevé de contamination pour lequel une intervention par un professionnel labélisé pour la remédiation est nécessaire.
- Prélèvements et analyse fongique à réaliser selon les prescriptions suivantes :
  - Protocole d'échantillonnage s'appuyant sur les recommandations de la norme EN ISO 16000-19 « Stratégie d'échantillonnage des moisissures» ;
  - Prélèvements d'air par impaction en suivant les recommandations de la norme EN ISO 16000-18 « Détection et dénombrement des moisissures – Echantillonnage par impaction » pour l'échantillonnage et de la norme EN ISO 16000-17 « Détection et dénombrement des moisissures – Méthode par culture » pour le dénombrement.

  Compte tenu de l'impossibilité de définir un seuil sanitaire en dessous duquel aucun effet sur la santé n'est attendu pour la population générale, le CES Air suggère les modalités de gestion suivantes pour l'interprétation des résultats :

  - les concentrations en flore fongique supérieures à 1000 UFC.m^{-3}, mesurées dans les environnements intérieurs par impaction et culture, sont considérées comme anormalement élevées et une recherche des causes ainsi qu'une intervention par un professionnel labélisé pour la remédiation est alors recommandée. Ce niveau de concentration est issu de la compilation des données de la littérature et correspond à la valeur du 95ème percentile des niveaux moyens mesurés dans des logements et établissements recevant du public. Cette valeur n'est pas un seuil sanitaire, et des concentrations inférieures peuvent être à l'origine de pathologies ou de symptômes;
  - le dénombrement et l'identification des espèces présentes, ainsi qu'une interprétation des résultats en fonction des effets sanitaires connus des moisissures

[7] Définition INSEE : pièces à usage d'habitation (y compris la cuisine si sa surface excède 12 m²) ainsi que les pièces annexes non cédées à des tiers (chambres de service...). Ne sont pas comptées les pièces à usage exclusivement professionnel ainsi que les entrées, couloirs, salles de bain,...

[8] Pour les personnes atteintes de pathologies respiratoires chroniques et immunodéprimées, le nettoyage pourrait être réalisé par des proches ou des professionnels.

présentes afin d'évaluer les risques, pourront constituer une aide aux médecins pour l'interprétation des symptômes.

Le CES Air conseille de compléter les prélèvements d'air par tout type de prélèvements (matériaux, surfaces, poussière…) permettant de déterminer la source de contamination ou les espèces présentes.

En particulier, il serait utile qu'un protocole d'échantillonnage soit défini pour la collecte de la poussière sédimentée. Par exemple, ce protocole peut reposer sur un prélèvement par aspiration (1 m² aspiré pendant 2 minutes) ou par capteur électrostatique.

De façon globale, le CES recommande qu'une base de données des différentes mesures réalisées en France soit établie dans l'optique de centraliser et d'analyser les données en vue de constituer des références régionales et nationales. Celle-ci pourrait être associée à une base de données existante, par exemple celle sur la qualité de l'air intérieur ou de l'air ambiant.

A l'instar de ce qui est proposé pour les populations à risque, il est important de prendre en compte le risque fongique dans la prévention de la santé au travail. A ce titre, et dans le cas particulier de cette expertise, les services de santé au travail doivent prendre en compte le risque fongique dans les bâtiments en s'appuyant sur les présentes recommandations. La présence de moisissures visibles, de signes d'humidité, de dégât des eaux ou d'odeur de moisi dans les locaux de travail notamment dans le secteur tertiaire est un signal important à considérer dans le cadre du suivi médical des travailleurs.

Plus largement, le CES Air recommande que l'asthme consécutif à une exposition aux moisissures sur le lieu de travail puisse être mieux reconnu en tant que maladie professionnelle.

III. Recommandations de recherche :

En matière de veille scientifique et de recherche, le CES Air recommande :

- de poursuivre les études visant à caractériser la situation française en termes de contamination par des moisissures dans les bâtiments et d'initier des études spécifiques pour caractériser la situation dans les départements et régions d'outre-mer :
  - Les questionnaires proposés pour caractériser les logements devraient être complétés par des questions spécifiques et individualisées sur l'odeur de moisi, la présence de moisissures visibles et la surface concernée.
  - Les développements récents mis en avant dans cette expertise devraient être mis en œuvre : par exemple les méthodes de prélèvements par capteurs électrostatiques, cyclones liquide, capteurs individuels, suivies d'une analyse par culture, par PCR en temps réel ou par séquençage haut débit. L'effondrement de la biodiversité fongique serait à étudier pour évaluer un éventuel dysfonctionnement supplémentaire.
  - La contamination fongique des nouveaux bâtiments énergétiquement performants devrait être suivie sur plusieurs années.
- de réfléchir à la pertinence et la faisabilité de la mise en place d'un système de surveillance permettant l'utilisation des données françaises pour estimer la fréquence des pathologies associées à l'exposition aux moisissures dans les environnements intérieurs et les décrire. Cela permettrait de rendre disponibles les informations acquises et des références plus complètes pour l'évaluation, la gestion ou la recherche.

- d'encourager la poursuite d'études épidémiologiques longitudinales, intégrant un volet sur la qualité du logement, y compris la présence de moisissures :
    - La réalisation, dans les études épidémiologiques, de mesures permettant de caractériser différents niveaux d'exposition ainsi que l'identification plus fine des espèces fongiques est nécessaire afin d'étudier les relations dose-réponse ;
    - La réalisation d'études interventionnelles est aussi nécessaire pour évaluer l'efficacité des travaux de remédiation.
- de conduire des études toxicologiques afin d'évaluer les effets de l'exposition à l'air ou aux poussières provenant de logements contaminés par les moisissures, en lien avec la présence des différentes espèces fongiques et de leurs composants (spores, mycotoxines, allergènes, COV_m) en insistant sur la prise en compte des mélanges et l'identification des relations doses réponses.

Enfin, dans le domaine des sciences humaines et sociales, le CES recommande :

- de réaliser des enquêtes relatives aux conséquences d'une exposition spécifique aux moisissures dans le bâti en matière de santé mentale et d'isolement social ainsi que d'impact sur les représentations de soi et de sa santé. En effet, le logement en tant que déterminant de la santé intervient de manière dynamique dans un processus de précarisation ou d'intégration sociale.
- de mettre en place, pour les populations en situation de précarité énergétique ou en sur-occupation, des études sur la perception et l'usage des dispositifs existants et des recommandations pour le bon usage d'un logement. Cela permettra d'identifier les freins et les leviers d'actions dans l'optique d'accroitre l'efficacité des informations disponibles.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions et recommandations du CES « Evaluation des risques liés aux milieux aériens ».

La présente expertise sur les moisissures dans le bâti s'inscrit dans la continuité des travaux d'expertise de l'agence sur les risques sanitaires liés aux contaminants de l'air intérieur. Elle met clairement en évidence le fait que l'exposition aux moisissures dans les environnements intérieurs constitue un enjeu majeur de santé publique au vu de la part importante des logements concernés, des effets avérés sur la santé respiratoire et de l'identification de groupes de population à risque.

L'expertise a notamment mis en évidence des groupes de population à risque du fait d'une sensibilité individuelle parmi lesquels figurent les patients immunodéprimés ou atteints de pathologies respiratoires chroniques plus susceptibles de développer des pathologies lorsqu'ils sont exposés aux moisissures que le reste de la population.

Des efforts soutenus doivent donc être déployés pour réduire les expositions aux moisissures dans le bâti. Ils devraient porter prioritairement sur la prévention du développement des moisissures dans le bâti et la prévention des conséquences sanitaires notamment sur les groupes de population les plus sensibles et /ou surexposés.

Concernant la prévention du développement des moisissures, l'agence recommande un renforcement de la coordination entre les acteurs des secteurs d'activité (construction, énergie, etc.) avec les autorités et acteurs publics pour améliorer la mise en cohérence de la gestion des risques. Cela concerne notamment l'information du public et la formation des professionnels. Il s'agit en particulier d'améliorer la prise en compte de l'interrelation des enjeux techniques liés au

bâti incluant l'isolation, la ventilation et le chauffage par l'ensemble des acteurs concernés. Il s'agit également de faciliter aux occupants (locataires, propriétaires, etc.) l'accès à des informations sur les mesures efficaces de prévention du développement des moisissures dans l'habitat ainsi qu'à des acteurs susceptibles de les conseiller et les aider dans cette démarche.

Concernant la prévention des conséquences sanitaires liées au développement des moisissures dans le bâti, l'Agence recommande une évolution de la réglementation afin de prendre en compte spécifiquement le risque fongique dans les logements. Il s'agit notamment de faciliter les conditions de recueil et de traitement des signalements effectués par les occupants relatifs au développement de moisissures dans le bâti et d'encadrer les conditions d'investigations par l'instauration de seuils d'action ou d'orientations de prévention ou de remédiation. L'Agence suggère enfin la réalisation d'une étude comparée des coûts attendus des différentes stratégies de prévention du risque fongique dans le bâti au regard des bénéfices estimés pour la collectivité.

Roger Genet

MOTS-CLES

Moisissure, Champignon microscopique, Environnement intérieur, Bâtiment, Santé, Exposition, Exposition risque environnement, Méthode mesure, Populations sensibles

Mold/Mould, Fungi, Indoor pollution, Indoor environment, Building, Interiors (building), Health, Environmental exposure, Measurement methods, Vulnerable Populations

ANNEXE 1

Propositions plus spécifiques pour la prise en charge du risque fongique pour des populations à risque correspondant à des sous-groupes de populations plus susceptibles de développer les effets sanitaires suite à une exposition aux moisissures

	Population à risque	Signalement		Evaluation de la situation à l'appréciation des acteurs de santé et des acteurs publics (SCHS, ARS) ou conseillers (CEI ou Conseiller habitat santé) lors de l'enquête à domicile	Actions
		Acteurs potentiels	Critères		
Populations avec sensibilité individuelle (pathologies préexistantes, âge)	**Enfants ou adultes atteints de pathologies respiratoires chroniques** (notamment asthme ou rhinite)	Professionnels de santé (pédiatre, pneumologue, allergologue, généraliste), Personnels de santé à domicile, Acteurs sociaux	Présence de moisissures visibles, humidité, dégât des eaux ou odeur de moisi signalée Et/ou signes cliniques / évolution clinique	• Evaluation de la surface moisie • Réalisation de prélèvements pour une caractérisation qualitative et/ou quantitative de la flore fongique (surfaces, air, poussières) et caractérisation de la diversité fongique)	Travaux permettant de traiter la cause et le développement des moisissures + contrôle de l'efficacité Arrêté d'insalubrité
	Patients Immunodéprimés à risque élevé d'infection fongique invasive à champignons filamenteux (hémopathie maligne, notamment allogreffe de moelle, transplantation d'organes)	Professionnels hospitaliers (hématologues, médecins transplanteurs)	Renseignements sur le logement par rapport à la présence de moisissures visibles, humidité, dégât des eaux, odeur de moisi signalée avant l'intervention /entretien pré-greffe ou au cours du suivi de greffe de moelle ou de transplantations d'organes	• Evaluation de la surface moisie • Réalisation de prélèvements pour une caractérisation qualitative et/ou quantitative de la flore fongique (surfaces, air, poussières) et caractérisation de la diversité fongique notamment pour l'identification de genres fongiques (espèces pathogènes thermotolérantes : *Aspergillus fumigatus*, mucorales)	Travaux permettant de traiter la cause et le développement des moisissures + contrôle de l'efficacité Accompagnement + nettoyage des pièces de vie Arrêté d'insalubrité Réalisation des travaux avant retour au domicile (hospitalisation dans une structure de moyen séjour pendant la période de rénovation) + Visite après remédiation.
	Enfants dès la naissance	Professionnels de santé (généraliste, pédiatre, pneumologue-allergologue) Personnels de santé à domicile Acteurs sociaux Personnels des crèches/écoles Professionnels hospitaliers	Présence de moisissures visibles, humidité, dégât des eaux ou odeur de moisi au domicile ou en crèche/école	• Evaluation de la surface moisie • Eventuellement réalisation de prélèvements pour une caractérisation qualitative et/ou quantitative de la flore fongique (surfaces, air, poussières) et caractérisation de la diversité fongique	Travaux permettant de traiter la cause et le développement des moisissures + contrôle de l'efficacité Arrêté d'insalubrité
Populations surexposées	**Populations à risque du fait d'une surexposition** - en précarité énergétique et/ou vivant en sur-occupation	Professionnels de santé Acteurs sociaux	Présence de moisissures visibles, humidité, dégât des eaux ou odeur de moisi au domicile		

ANNEXE 2 : SUIVI DES ACTUALISATIONS DE L'AVIS

Date	Page	Description de la modification
20/06/2016		Première version signée de l'avis de l'Anses
Octobre 2016	06	Correction d'erreurs de transcription des conclusions de l'Institut of medicine (IOM) et de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) dans le tableau de la partie 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT ET DU CES



Moisissures dans le bâti

Saisine « 2014-SA-0016 Moisissures dans le bâti »

RAPPORT
d'expertise collective

Comité d'experts spécialisé « Evaluation des risques liés aux milieux aériens »

Groupe de travail « Moisissures dans le bâti »

d'Avril 2016

révisé

en octobre 2016[1]

[1] annule et remplace le rapport d'avril 2016, voir Annexe 2.

Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail,
14 rue Pierre et Marie Curie, 94701 Maisons-Alfort Cedex
Téléphone : + 33 (0)1 49 77 13 50 - Télécopie : + 33 (0)1 49 77 26 26 - www.anses.fr

Mots clés

Moisissure, Champignon microscopique, Environnement intérieur, Bâtiment, Santé, Exposition, Exposition risque environnement, Méthode mesure, Populations sensibles

Mold/Mould, Fungi, Indoor pollution, Indoor environment, Building, Interiors (building), Health, Environmental exposure, Measurement methods, Vulnerable Populations

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae,* et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

GROUPE DE TRAVAIL

Président

Mme Sandrine ROUSSEL – Chercheur, ingénieur hospitalier (Centre hospitalier universitaire de Besançon - laboratoire de parasitologie mycologie) – Mycologie médicale ; surveillance et méthodes d'analyses microbiologiques

Membres

Mme Christina ASCHAN-LEYGONIE – Enseignant-chercheur (UMR 5600 - Environnement, Ville, Société, Université Lumière Lyon 2) – Géographie, urbanisme, santé, air

Mme Valérie BEX – Ingénieur (Laboratoire d'hygiène de la ville de Paris) – Biologie moléculaire et cellulaire, biocontaminants, moisissures, audit, métrologie

M. Stéphane BRETAGNE – Chef de service (Assistance publique des hôpitaux de Paris - laboratoire de parasitologie mycologie) – Médecine interne et maladies infectieuses, mycologie, pathologies invasives

M. Denis CAILLAUD – Chef de service, Professeur universitaire Professeur des universités, praticien hospitalier (Centre hospitalier universitaire Clermont-Ferrand), mycologie médicale, surveillance de la pollution biologique de l'air, épidémiologie

Mme Anne-Claire COLLEVILLE – Chargée de projet scientifique, sociologue de santé publique (Institut de veille sanitaire) – Sociologie, risques sanitaires, inégalités sociales, habitat dégradé

Mme Emilie FREALLE – Praticien hospitalier (Centre hospitalier régional universitaire de Lille-laboratoire de parasitologie mycologie) – Biologie médicale, mycologie médicale, champignons filamenteux (Aspergillus), enquêtes environnementales

M. Stéphane GINESTET – Maitre de conférences (Institut national de sciences appliquées - Laboratoire Matériaux et Durabilité des Constructions de Toulouse (LMDC)) – Génie civil, matériaux, air, énergie, thermique

M. Cyrille HARPET – Enseignant-chercheur (Ecole des hautes études en santé publiques) – Urbanisme, risques sanitaires, inégalités sociales et environnementales (Démission le 1 août 2014)

Mme Laurence LE COQ – Responsable du Département Systèmes Energétiques et Environnement (Ecole des Mines de Nantes) – Génie des procédés, aérosols dont bioaérosols, systèmes aérauliques

Mme Bénédicte LEYNAERT – Chargée de recherche (Institut national de la santé et de la recherche médicale) – Santé publique, épidémiologie, santé respiratoire, allergènes

Mme Rachel NADIF – Responsable d'équipe, chargée de recherche (Institut national de la santé et de la recherche médicale) – Epidémiologie, pathologies respiratoires, génétique, pharmacologie

Mme Isabelle OSWALD – Directeur de recherche (Inra Toulouse - Equipe immuno-myco-toxicologie Toxalim) – Mycotoxine, toxicologie, alimentation, animal

M. Gabriel REBOUX – Ingénieur sanitaire principal (Centre hospitalier universitaire de Besançon - laboratoire de parasitologie mycologie) – Mycologie médicale, surveillance environnementale (rural, hôpital, domicile), développement métrologique

RAPPORTEURS

M. Denis CHARPIN – Professeur des universités, praticien hospitalier (Aix Marseille Université) – Spécialités : médecine, agents polluants et allergènes, épidémiologie des risques liés à l'environnement.

Mme Anne OPPLIGER – Chef de projets (Institut universitaire romand de santé au travail) – Spécialités : Santé travail, bioaérosols.

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par le CES suivant :

- Evaluation des risques liés aux milieux aériens – 28 février 2014, 6 novembre 2014, 19 mars 2015, 9 juillet 2015, 17 décembre 2015, 4 février 2016, 17 mars 2016 et 14 avril 2016

Président

M. Christophe PARIS – Professeur des universités, praticien hospitalier (Université de Lorraine EA7298 INGRES, – Centre hospitalier universitaire de Nancy). Spécialités : épidémiologie des risques professionnels, pathologies professionnelles.

Vice-présidente

Mme Séverine KIRCHNER – Directrice adjointe de la Direction santé confort (Centre scientifique et technique du bâtiment), coordinatrice de l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur – Spécialités : chimie et pollution de l'atmosphère, air intérieur, expologie.

Membres

M. Gille AYMOZ – Chef de service qualité de l'air (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie) - Spécialités : physico-chimie de l'atmosphère, rejets atmosphériques. (Démission le 24 mars 2016).

Mme Armelle BAEZA – Professeur des universités (Université Paris Diderot) – Spécialité : toxicologie.

M. Claude BEAUBESTRE – Chef de département (Laboratoire d'hygiène de la ville de Paris) - Spécialités : pollution de l'air intérieur, microbiologie.

M. Olivier BLANCHARD – Enseignant chercheur (Ecole des hautes études en santé publique) – Spécialités : évaluation des risques sanitaires, pollution atmosphérique, qualité de l'air intérieur.

Mme Nathalie BONVALLOT – Enseignant chercheur (Ecole des hautes études en santé publique) – Spécialités : toxicologie, évaluation des risques sanitaires.

M. Patrick BROCHARD – Professeur des universités, praticien hospitalier (Université Bordeaux II – Centre hospitalier universitaire de Bordeaux) – Spécialités : médecine du travail, évaluation des risques sanitaires, agents polluants.

M. Denis CHARPIN – Professeur des universités, praticien hospitalier (Aix Marseille Université) – Spécialités : médecine, agents polluants et allergènes, épidémiologie des risques liés à l'environnement.

M. Jean-Dominique DEWITTE - Professeur des universités, praticien hospitalier (Université de Brest) – Spécialités : Santé travail, pneumologie.

Mme Emilie FREALLE – Praticien hospitalier (Centre hospitalier régional universitaire de Lille) – Spécialités : Ecologie microbienne de l'air, microbiologie analytique, évaluation et prévention du risque microbiologique, surveillance de l'environnement intérieur.

M. Philippe GLORENNEC – Enseignant chercheur (Ecole des hautes études en santé publique – Institut de recherche sur la santé, l'environnement et le travail, UMR Inserm 1085) – Spécialités : expologie, évaluation des risques sanitaires.

Mme Muriel ISMERT – Responsable unité impact sanitaire et exposition (Institut national de l'environnement industriel et des risques) – Spécialités : écotoxicologie, évaluation des risques sanitaires, qualité de l'air intérieur (Démission le 26 novembre 2014).

M. Eddy LANGLOIS – Ingénieur, responsable de laboratoire (Institut national de recherche et de sécurité) – Spécialités : métrologie des polluants, air des lieux de travail (santé travail), surveillance et méthodes d'analyse.

Mme Danièle LUCE – Directrice de recherche (Institut national de la santé et de la recherche médicale) – Spécialités : Epidémiologie, santé travail.

Mme Christelle MONTEIL – Enseignant-chercheur (Université de Rouen) – Spécialités : toxicologie.

Mme Anne OPPLIGER – Chef de projets (Institut universitaire romand de santé au travail) – Spécialités : Santé travail, bioaérosols.

M. Loïc PAILLAT – Ingénieur, responsable technique (Laboratoire central de la préfecture de police) – Spécialités : métrologie des polluants, air intérieur, air ambiant et air des lieux de travail.

Mme Mathilde PASCAL – Chargée de projets (Institut de veille sanitaire) – Spécialités : épidémiologie, santé environnement, air et climat.

M. Emmanuel RIVIERE – Directeur adjoint (Association pour la surveillance et l'étude de la pollution atmosphérique en Alsace) – Spécialités : Méthode d'analyse et de surveillance, modélisation des émissions, évaluation de l'exposition.

Mme Sandrine ROUSSEL – Ingénieur hospitalier (Centre hospitalier régional universitaire de Besançon) – Spécialités : microbiologie, pathologies respiratoires et allergiques, microorganisme de l'environnement.

M. Rémy SLAMA – Directeur de recherche (Institut national de la santé et de la recherche médicale) – Epidémiologie environnementale, reproduction et fertilité, santé des enfants, milieux aériens et environnement, perturbateurs endocriniens

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

M. Thomas BAYEUX – appui scientifique du GT – Direction de l'information, de la communication et du dialogue avec la Société

M. Guillaume BOULANGER – Adjoint au chef de l'Unité d'évaluation des risques liés à l'air – Direction de l'évaluation des risques

Mme Clémence FOURNEAU – appui scientifique du GT - Direction de l'évaluation des risques

Mme Marion KEIRSBULCK – coordination scientifique du GT - Direction de l'évaluation des risques

Contribution scientifique

M. Thomas BAYEUX – Direction de l'information, de la communication et du dialogue avec la Société

Mme Salma ELREEDY – Adjointe au chef de la Direction des affaires européennes et internationales

Mme Clémence FOURNEAU – Direction de l'évaluation des risques

Mme Marion KEIRSBULCK – Direction de l'évaluation des risques

M. Guillaume PEROUEL – Direction de l'évaluation des risques

Secrétariat administratif

Mme Sophie SADDOKI – assistante - Direction de l'évaluation des risques

AUDITION DE PERSONNALITÉS EXTÉRIEURES

Centre scientifique et technique du bâtiment - Division « Agents biologiques et aérocontaminant » de la Direction Santé Confort

M. Enric ROBINE – Chef de division

Mme Marjorie DRAGHI – Ingénieur d'Etudes et de Recherche

Service communal d'hygiène et santé (SCHS) de la ville de Montreuil (93)

Mme Anne-Laure BORIE – Responsable du SCHS

M. Yves BUISSON – retraité

Assistance publique des hôpitaux de Paris (APHP) et Société Pédiatrique de Pneumologie et d'Allergologie

Mme Véronique HOUDOUIN – Pneumologue

Laboratoire d'hygiène de la ville de Paris (LHVP) (75)

Mme Béatrice CAULET – Conseillère en environnement intérieur

Agence régionale de santé – Délégation territoriale (ARS - DT)

M. Dominique BRUNEL – Ingénieur d'études sanitaires - DT ARS Seine Maritime (76)

Mme Sophie EGLIZAUD – Ingénieur d'études sanitaires - ARS Pays de la Loire

Mme Caroline NICOLAS – Ingénieur d'études sanitaires - DT ARS Loiret (45)

M. Cyril RIMBAUT – Ingénieur d'études sanitaires - DT ARS Rhône (69)

Délégation interministérielle à l'hébergement et à l'accès au logement DIHAL.

Mme Susanne KULIG – chargée de mission santé – environnement – Outre-Mer DIHAL/PNLHI

Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie (ADEME)

M Pierre DEROUBAIX – Ingénieur - Service Bâtiment

Agence Lutte Habitat Indigne Conseil Alhiconseil

M. Edouard DAO – Président,

MEDIECO - Ingénierie de santé dans le bâti et l'urbanisme

Mme Suzanne DEOUX – docteur en médecine, directrice associée MEDIECO Conseil & Formation

Fédération solidaires pour l'habitat (SOLIHA (ancien PACT))

Mme Anne LE BAIL – architecte - chef de projet

Société française de mycologie médicale (SFMM)

Jean-Pierre GANGNEUX – Professeur des universités - praticien hospitalier (Parasitologie et mycologie) - Président de la SFMM

CONTRIBUTIONS EXTÉRIEURES AU(X) COLLECTIF(S)

Exposition de la population aux moisissures dans les logements et les écoles. Exploitation des données de l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur. - Olivier RAMALHO, Eline LE PONNER, Corinne MANDIN - Centre Scientifique et Technique du Bâtiment - Direction Santé-Confort / Division Expologie - Septembre 2015 - Rapport final n° DSC-Expologie/2015-075R - Convention de recherche et développement ANSES/CSTB n° 2014-CRD-24

SOMMAIRE

Présentation des intervenants ... 3
Sigles et abréviations ... 11
Liste des tableaux ... 17
Liste des figures ... 19
1 Contexte, objet et champ de l'expertise ... 21
1.1 Contexte ... 21
1.2 Objet de la saisine ... 21
1.3 Champ de l'expertise ... 22
2 Méthode d'expertise ... 24
2.1 Modalité de traitement : moyens mis en œuvre et organisation ... 24
2.2 Axes de travail ... 24
2.3 Revue de la littérature ... 26
2.4 Données du CSTB-OQAI ... 27
2.5 Consultations ... 29
2.5.1 En France ... 29
2.5.2 En Europe et au niveau international ... 29
2.6 Auditions ... 30
2.7 Prévention des risques de conflits d'intérêts. ... 31
3 Caractérisation des expositions aux moisissures dans les environnements intérieurs ... 32
3.1 Moisissure, caractéristiques biologiques et facteurs de développement en environnement intérieur ... 32
3.2 Présentation des développements métrologiques et analytiques ... 35
3.2.1 Techniques de prélèvement ... 36
3.2.2 Importance de la stratégie d'échantillonnage ... 41
3.2.3 Techniques d'analyse ... 44
3.2.4 Utilisation d'appateils à lecture directe : proxi ... 54
3.2.5 Conclusions sur l'évolution des méthodes depuis 2006 ... 55
3.2.6 Comparaison des méthodes ... 56
3.3 Conclusion ... 60
4 Effets sur la santé liés aux moisissures ... 62
4.1 Introduction ... 62
4.2 Synthèse des conclusions des travaux précédents ... 62
4.3 Données chez l'Homme ... 69
4.3.1 Revue des études épidémiologiques : objectif et méthode mise en œuvre dans l'expertise ... 69
4.3.2 Caractérisation de l'exposition fongique dans les études épidémiologiques ... 70
4.3.3 Effets respiratoires ... 73
4.3.4 Syndrome du bâtiment malsain, effets neurologiques et psychologiques ... 131
4.3.5 Conclusions sur l'apport des données chez l'Homme ... 136
4.4 Données chez l'animal ... 138
4.4.1 Objectif et démarche de revue de la littérature ... 138
4.4.2 Effets respiratoires ... 138
4.4.3 Effets extra-respiratoires de S. chartarum ... 148
4.4.4 Conclusions sur l'apport des données toxicologiques ... 150
4.5 Conclusions ... 151
5 Populations à risque ... 155
5.1 Objectif et approche retenue ... 155
5.2 Déterminants sociaux et géographiques de l'exposition ... 156
5.2.1 Précarité énergétique ... 156
5.2.2 Suroccupation ... 157
5.2.3 Comportement et usages des occupants ... 159
5.2.4 Situation géographique et contexte du lieu d'habitation ... 159

5.3 Populations à risque du fait d'une surexposition 163
5.3.1 Caractéristique des ménages potentiellement exposés aux contaminations fongiques 163
5.3.2 Population concernée : un lien fort entre inégalités sociales de santé et mauvaises conditions de logement 167
5.4 Populations à risque du fait d'une sensibilité individuelle 169
5.4.1 Sensibilité liée à l'âge et/ou au sexe 169
5.4.2 Hypersensibilité immunologique 170
5.4.3 Sensibilité liée à des pathologies préexistantes 172
5.5 Conclusion 175
6 Bâtiments : développement des moisissures, prévention et remédiation 179
6.1 Etat des lieux du parc de logements en France 179
6.2 Vulnérabilité des matériaux 185
6.2.1 Paramètres de développement des moisissures dans le bâti 185
6.2.2 Evaluation et estimation du développement des moisissures 188
6.3 Conception et éléments structurels du bâtiment 192
6.3.1 Ventilation du logement 192
6.3.2 L'enveloppe du bâti 196
6.3.3 Chauffage 204
6.4 Focus sur les mises en chantier des bâtiments neufs et la rénovation dans l'ancien 206
6.4.1 Bâtiments neufs : conception et mise en chantier 206
6.4.2 Rénovation 207
6.5 Conclusion 208
7 Gestion : politiques publiques et réglementation 209
7.1 Cadre réglementaire 209
7.1.1 En France 209
7.1.2 A l'étranger 214
7.2 Enseignements et difficultés du terrain 221
7.2.1 En France 221
7.2.2 A l'étranger 225
7.3 Conclusion 229
8 Conclusions et recommandations 231
9 Bibliographie 244
Annexe 1 : Lettre de saisine 268
Annexe 2 : Suivi des actualisations du rapport 270
Annexe 3 : Détail de la revue de la littérature réalisée dans l'expertise « Moisissures dans le bâti » 271
Annexe 4 : Questionnaire établi pour la consultation des agences régionales de santé 278
Annexe 5 : Liste des organismes et pays ciblés dans la consultation internationale de l'Anses sur la thématique « Moisissures et santé ». ... 280
Annexe 6 : Questionnaire soumis dans le cadre de la consultation internationale 281
Annexe 7 : Comptes rendus des auditions 283
Annexe 8 : Annexe technique relative au chapitre 3 Caractérisation des expositions aux moisissures dans les environnements intérieurs 302
Annexe 8.1 : Méthodes de mesure reposant sur l'analyse par culture 302
Annexe 8.2 : Méthodes de mesure reposant sur l'analyse par biologie moléculaire 309
Annexe 8.3 : Méthodes de mesure reposant sur la recherche de composants ou métabolites fongiques 312

Annexe 9 : Classification du niveau de preuve retenue par l'IOM en 2004 et reprise par l'OMS en 2009 sur l'association entre l'exposition aux moisissures et la survenue d'effets sur la santé....................................... 321
Annexe 10 : Grille d'analyse des articles sur les effets sur la santé (Etape 3)322
Annexe 11 : Référence bibliographique relative à d'autres pathologies telles que des dermatites atopiques, des effets oculaires (*fungal corneal ulcers*), des cancers, des troubles coronariens, un dysfonctionnement des cordes vocales, une obstruction des voies aériennes et des décès non développées dans le cadre de la présente expertise. 323
Annexe 12 : Description des données épidémiologiques dans lesquelles a été caractérisé les genres ou espèces fongiques par analyse par culture... 325
Annexe 13 : Synthèse du rapport du Nordic Expert Group (NEG) 330
Annexe 14 : Analyse des données épidémiologiques avec une exposition quantitative aux moisissures 333
Annexe 15 : Les différents modèles d'estimation de croissance des moisissures.. 338
Annexe 16 : Synthèse des étapes d'intervention des services préfectoraux, de services déconcentrés de l'Etat ou de services municipaux dans la lutte contre l'habitat indigne 341
Annexe 17 : Synthèse des études interventionnelles 343

Sigles et abréviations

AAR : alvéolites allergiques extrinsèques

ABPA : Aspergilloses Broncho-Pulmonaire Allergique

ADEME : Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie

ADIL : Agences Départementales d'information sur le Logement

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ALUR : accès au logement et un urbanisme rénové

ARN : Acide ribonucléique

ARS : Agence régionale de santé

AP-HP : l'Assistance publique des hôpitaux de Paris

ASHRAE : American Society of Heating, Refrigerating, and Air-Conditioning Engineers

ASTM : American Society for the Testing of Materials

Aw : *Disponibilité* de l'*eau (a*ctivity of water)

BBC : Bâtiment Basse Consommation

BMA : British Medical Association en anglais (association médicale britannique)

BPCO : Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive

BPE : Bâtiment Performant en Énergie

CAF : Caisse d'allocations familiales

CDC : Centers for Disease Control and Prevention

CCAAPS : *Cincinnati Childhood Allergy and Air Pollution Study*

CEI : Conseiller en environnement intérieur (ou CMEI : conseiller médical en environnement intérieur)

CEN : comité européen de normalisation

CEREMA : centre d'études et d'expertise sur les risques, l'environnement, la mobilité et l'aménagement

CES : Comité d'experts spécialisé

CFTR : Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CHSCT : Comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail

CI : confidence interval en anglais (Intervalle de confiance)

CIRC : Centre international de recherche sur le cancer (IARC International agency for Research on Cancer en anglais)

CK : cytokines

CMEI : conseiller médical en environnement intérieur (ou CEI : Conseiller en environnement intérieur)

CNL : campagne nationale logements

CoDERST : conseil de l'environnement et des risques sanitaires et technologiques

Cofrac : comité français d'accréditation

COV : Composés Organiques Volatils

COV_m : Composés Organiques Volatils microbiens

CPSCS : California Preschool Social Competence Scale

CSHPF : Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France

CSTB : Centre Scientifique et Technique du Bâtiment

CTA : Centrale de Traitement de l'Air

CVC : Chauffage, Ventilation et Climatisation

CVF : Capacité Vitale Forcée

DALYS: disability-adjusted life years en anglais (année de vie perdu)

DAS : diacétoxyscirpenol

DCT : détection à conductivité thermique

DG-18 : dichloran-glycérol 18%

DGGE : Denaturing Gradient Gel Electrophoresis en anglais (électrophorèse sur gradient dénaturant)

DGPR : Direction générale de la prévention des risques

DGS : Direction générale de la santé

DIF : Détection à ionisation de flamme

DIHAL : Délégation interministérielle à l'hébergement et à l'accès au logement

DMSO : diméthylsulfoxyde

DROM-COM : Départements et Régions d'Outre-Mer - Collectivités d'Outre-Mer

ECRHS : Etude European Community Respiratory Health Survey

EE : effet de l'exposition

EHI : Enquête sur l'habitat indigne

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay en anglais (dosage d'immunoabsorption par enzyme lié)

EN : European Normalisation

ENL : Enquête Nationale Logement

ENRIECO: Environmental Health Risks in European Birth Cohorts

EPA : Environmental Protection Agency

EPAR *:* Épidémiologie des maladies Allergiques et Respiratoires

EPCI : Etablissement public de coopération intercommunationale

EPI : Equipement de protections individuelles

EPS : Extracellular polymeric substances en anglais (Polysaccharides Extracellulaires)

ERMI : Environmental Relative Moldiness Index

ERP : Etablissement recevant du public

ESCAL : étude sur la santé et les consommations alimentaires en Martinique

ESMHA : Effets Sanitaires des Moisissures dans l'Habitat

ESP-r :

ESPS : Enquête Santé et Protection Sociale

FERMA : Environmental Factors of Rural environment and Respiratory and Allergic Diseases

FIOH : Finnish Institute of Occupational Health

GC : Gaz chromatography en anglais (chromatographie en phase gazeuse)

GT : Groupe de Travail

HEPA : Haute Efficacité pour Particules Aériennes

HIA : Halogen immunoassay en anglais (

HLM : Habitation à Loyer Modéré

HPLC : high performance liquid chromatography en anglais (chromatographie en phase liquide à haute performance)

HR : Hazard Ratio

ICF : Indice de Contamination Fongique

IEA : International Energy Agency en anglais (agence internationale de l'énergie)

IgE : Immunoglobuline E

Insee : Institut National de la Statistique et des Études Économiques

Inserm : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale

INSPQ : *Institut National de Santé Publique du Québec*

InVS : Institut de Veille Sanitaire

IOM : Institut Of Medicine

IPCS : Programme international sur la sécurité chimique

IPRP : intervenant en prévention du risque professionnel

Irdes : Institut de Recherche et Documentation en Economie de la Santé

ISAAC : International Study of Asthma and Allergies in Childhood

ISO : International Organization for Standardization

IT : instillation intra-trachéale

JORF : Journal Officiel de la République Française

LARES : Large Analysis and Review of European housing and health Status

LDH : lactate déshydrogénase

LHVP : Laboratoire d'hygiène de la ville de Paris

LLBA :liquide de lavage broncho-alvéolaire

LOAEL : LOAEL : Lowest Observed Adverse Effect Level (en français : dose la plus faible pour laquelle est observé un effet indésirable)

MA : macrophages alvéolaires

MS : mass spectrometry en anglais (spectrométrie de masse)

MSCA : McCarthy Scales of Child Abilities

NAHA : N-acetylhexosaminidase

NE : nez électroniques

NEG : Nordic Expert Group

NF : norme française

NGS : Next Generation Sequencing

NHANES : National Health and Nutrition Examination Survey

NO : oxyde nitrique

NOAEL : No Observed Adverse Effect Level (en français: Dose Maximale Sans Effet Néfaste Observé)

NOx : Oxydes d'azote

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONPE : Observatoire National de la Précarité Énergétique

OQAI : Observatoire de la Qualité de l'Air Intérieur

OR : Odds Ratio ; ORa : Odds Ratio ajusted

ORS-IDF : Observatoire Régional de Santé - *Île-de-France*

OSM : Observatoire de la santé de la Martinique

OTU : operational taxonomic unit

OVA : ovalbumine

PAC : phosphatase acide

PATY : The Pollution and the Young

PCR-TTGE : PCR-temperature temporal gradient electrophoresis

PDF: poumon de fermier

PE : Polyéthylène

pH : *Potentiel Hydrogène*

PHS : Pneumopathies d'Hypersensibilité

PIB : produit intérieur brut

PNN : polynucléaires neutrophiles

PNSE : plan national santé environnement

PRSE : plan régional santé environnement

PUR : Polyuréthane

PV : Pression de Vapeur

PVs : Pression de Vapeur Saturante

PVC : polychlorure de vinyle

qPCR : Réaction en Chaîne par Polymérase Quantitative

RI : réponse immunitaire

RIVM : Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (Institut National de Santé Publique et Environnement (Pays-Bas))

RLU : Relative Light Units en anglais (Unités Relatives de Lumière)

RMI : Revenu Minimum d'Insertion

RR : relative risk ; RRa : relative risk ajusted

RSDT : Règlement Sanitaire Départemental Type

RT : Réglementation Thermique

SBS : sick building syndrom en anlais (en français : Syndrome des Bâtiments Malsains)

SCHL : Société canadienne d'hypothèques et de logement

SCHS : service communal d'hygiène et santé

SFH2 : société française d'hygiène hospitalière

SFMM : Société française de mycologie médicale

SILHIBAD : Service Intercommunal d'hygiène et de santé dédié à la Lutte contre l'Habitat Indigne et les BAtiments Dangereux

SINPHONIE : Schools Indoor Pollution and Health: Observatory Network in Europe

SOLIHA : Fédération Solidaires pour l'habitat (ancien PACT)

SRU : solidarité et renouvellement urbain

SSCP : single strand conformation polymorphism (en français : polymorphisme de conformation des simples brins)

SWESIAQ : Swedish Chapter of International Society of Indoor Air Quality and Climate (en français: société suédois de qualité d'air intérieur)

TOW : Time-of-wetness en anglais (en français: durée d'humidité)

T-RH : Température – Humidité Relative

UBA : Umweltbundesamt (en français: agence de l'environnement allemande)

UE : Union Européenne

UFC : unité formant colonie (CFU : colony-forming unit en anglais)

VEMS : Volume Expiratoire Maximum Seconde

VGAI : valeurs guides de qualité d'air intérieur

VMC : Ventilation Mécanique Contrôlée

VTT : Centre de Recherche Technique de Finlande

WGS : Whole Genome Sequencing

Liste des tableaux

Tableau 1 : Comparaison des différents types de prélèvements 58

Tableau 2 : Comparaison des différents méthodes d'analyse (mesures des moisissures ou de composés fongiques (ADN, antigènes, COV, mycotoxines,…)) 59

Tableau 3 : Moisissures fréquemment identifiées dans les environnements intérieurs humides et leurs effets pathogènes potentiels (CSHPF, 2006) 64

Tableau 4 : Résumé des conclusions du rapport de l'IOM (2004) (à gauche) et celles du rapport de l'OMS (2009) (à droite) 66

Tableau 5 : Synthèse des méta-analyses et revues systématiques portant sur l'association entre l'exposition aux moisissures et l'asthme ainsi que d'autres symptômes respiratoires 79

Tableau 6 : Synthèse des données des études longitudinales ayant analysé l'association entre l'exposition qualitative aux moisissures et le développement de l'asthme chez l'enfant et l'adolescent 87

Tableau 7 : Synthèse des données des études longitudinales ayant analysé l'association entre l'exposition quantitative aux moisissures et l'asthme chez l'enfant et l'adolescent 92

Tableau 8 : Synthèse des données des études prospectives ayant analysé l'association entre l'exposition aux moisissures et l'aggravation des symptômes chez des personnes asthmatiques 98

Tableau 9 : Synthèse des données des études longitudinales ayant analysé l'association entre l'exposition qualitative aux moisissures et l'asthme chez l'adulte 103

Tableau 10 : Synthèse des données des études longitudinales ayant analysé l'association entre l'exposition aux moisissures sur le lieu de travail et l'asthme chez l'adulte 107

Tableau 11 : Synthèse des genres ou espèces majoritairement identifiés dans les études épidémiologiques et les résultats d'association entre l'exposition et les symptômes sur la santé 119

Tableau 12 : Synthèse des méta-analyses et revues systématiques portant sur l'association entre l'exposition aux moisissures et la rhinite 120

Tableau 13 : Synthèse des données des études longitudinales ayant analysé l'association entre l'exposition aux moisissures et la rhinite allergique 124

Tableau 14 : Synthèse des genres ou espèces majoritairement identifiés dans les études épidémiologiques et les résultats d'association entre l'exposition et les symptômes sur la santé 130

Tableau 15 : Synthèse des données des études longitudinales ayant analysé l'association entre l'exposition aux moisissures et le syndrome du bâtiment malsain 133

Tableau 16 : Synthèse des données des études longitudinales ayant analysé l'association entre l'exposition aux moisissures et les effets neurologiques 136

Tableau 17 : Synthèse des conclusions de l'expertise des données épidémiologiques 137

Tableau 18 : Résumé des conclusions de l'IOM (2004), de celles de l'OMS (2009) et de la présente expertise concernant les liens entre la présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements humides et la survenue d'asthme, rhinite allergique, effets neurologiques et psychologiques selon la classification du niveau de preuve détaillée en Annexe 8 154

Tableau 19 : Ménages en situation de suroccupation, selon le type d'habitat (source : Insee, Enquête Logement 2013) 158

Tableau 20 : Ménages en situation de surpeuplement, selon le type d'habitat, l'âge de la personne de référence et le statut d'occupation (en %) (Insee, Enquête Logement 2013) 165

Tableau 21 : Ménages en situation de suroccupation (Source : Insee, enquêtes annuelles de recensement de 2004 à 2007) 167

Tableau 22 : Part des logements comportant des défauts (Source : Insee, enquête Logement 2013) 180

Tableau 23 : Synthèse de quelques espèces fongiques isolées à partir de divers matériaux (CSHPF, 2006) 186

Tableau 24 : Classe de matériaux pris en compte dans le modèle de prédiction (Sedlbauer, 2001) 187

Tableau 25 : Tableau d'indice fongique (Ritschkoff, 2000) 189

Tableau 26 : Synthèse des modèles de prédiction de la dégradation biologiques (Berger, 2014) 191

Tableau 27 : Comparaison des modèles dynamiques Isoplethe et Biohygrothermal (Sedlbauer, 2001) 191

Tableau 28 : Surfaces moisies proposées par différents référentiels 203

Tableau 29 : Réglementations, valeurs guides et actions concernant la qualité de l'air des logements dans des pays européens (Franci, 2004) 214

Tableau 30 : Conditions réglementaires relatives à la surveillance de la contamination fongique – Décret portugais (*Diário da República, 1.ª série — N.º 235 — 4 de dezembro de 2013*) 218

Tableau 31: Référentiels et guides d'identification de la présence de moisissures dans l'air intérieur 226

Tableau 32 : Recommandations pour aider à la prise de décision concernant l'échantillonnage après une inspection sur le terrain (extrait de la norme NF EN ISO 16000-19) 305

Tableau 33 : Synthèse des niveaux moyen, médian et maximal en flore totale mesurée par culture dans des logements et écoles issus de la revue de la littérature 307

Tableau 34 : Synthèse des données des études interventionnelles publiées depuis 2006 évaluant l'efficacité d'actions de remédiation sur la bâti 343

Liste des figures

Figure 1 : Etapes de la revue de la littérature suivies pour l'expertise sur les moisissures dans le bâti ____ 26

Figure 2 : Illustration des champignons de l'environnement ____ 32

Figure 3 : Représentation schématique de l'observation microscopique de 4 espèces fongiques : (a) *Alternaria alternata*, (b) *Penicillium chrysogenum* ; (c) *Aspergillus fumigatus*, (d) *Cladosporium cladosporioides* (de Hoog, 2000) ____ 33

Figure 4 : Représentation schématique d'une hyphe et de sa paroi (paroi d'Aspergillus fumigatus d'après Beauvais, 2014) et origine des constituants libérés au cours de la croissance des moisissures ____ 35

Figure 5 : Conduite à suivre pour l'évaluation de la contamination fongique d'un logement à partir de prélèvement d'air ____ 43

Figure 6 : Représentation de la relation entre l'exposition qualitative aux moisissures et/ou humidité intérieures et risque d'asthme issue des données des 7 méta-analyses identifiées ____ 78

Figure 7 : Représentation de l'analyse narrative de Tischer *et al.* (2011c) des études épidémiologiques portant sur l'*association entre exposition à des composants fongiques et symptômes allergiques* ____ 78

Figure 8 : Représentation des données épidémiologiques longitudinales issues de 3 publications intégrant des expositions exprimées en flore totale (CFU.m^{-3}) à partir de mesures dans l'air ____ 112

Figure 9 : Représentation des données épidémiologiques transversales et rétrospectives issues de 3 publications intégrant des expositions exprimées en flore totale (CFU.m^{-3}) à partir de mesures dans l'air ____ 113

Figure 10 : Représentation des données épidémiologiques transversales et rétrospectives issues de 3 publications intégrant des expositions en *Penicillum* (a) ou *Aspergillus ((b)* (CFU.m^{-3}) à partir de mesures dans l'air ____ 114

Figure 11 : Représentation des comparaisons d'expositions exprimées en flore totale (CFU.m^{-3}) à partir de mesures dans l'air réalisées dans les études cas-témoins s'intéressant à des personnes asthmatiques ____ 115

Figure 12 : Représentation des données épidémiologiques transversales issues de 3 publications intégrant des expositions en spore par m^3 à partir de mesures dans l'air ____ 116

Figure 13 : Représentation des données épidémiologiques longitudinales issues de 2 publications intégrant des expositions en flore totale (CFU.g^{-1}) à partir de mesures dans les poussières déposées ____ 117

Figure 14 : Représentation des données épidémiologiques longitudinales issues de 2 publications appréhendant l'exposition par l'indice ERMI à partir de mesures dans les poussières déposées ____ 118

Figure 15 : Représentation des comparaisons d'expositions appréhendées par l'indice ERMI à partir de mesures dans les poussières déposées issues de 2 publications ____ 118

Figure 16 : Représentation des données épidémiologiques décrivant une relation dose-réponse entre l'exposition fongique (concentration en flore totale dans l'air intérieur en CFU.m^{-3} (a) et (b), concentration en nombre totale de spores par m^3 (c) et concentration en Penicillium en CFU.m^{-3} (d)) et le risque de rhinite allergique ____ 128

Figure 17 : Représentation des comparaisons d'expositions à partir de mesures dans les poussières déposées ____ 129

Figure 18 : Temps en heures quotidien passé à l'intérieur du logement (moyenne sur la semaine) en fonction du sexe et de l'âge (Zeghnoun, 2010) ____ 166

Figure 19 : Les ménages ayant un problème d'humidité ou de fuites dans les murs ou dans le toit dans leur logement (2007) (Source : Braubach & Fairburn, 2010) ____ 168

Figure 20 : Problèmes de logement auto-déclarés (moisissure, mauvaise qualité de l'air ou froid en hiver) par groupe de revenu (Source : Braubach & Savelsberg, 2009) 169

Figure 21 : Arbre des causes de présence de moisissures sur les éléments de construction (Oswald, 2003 repris par UBA, 2005) 183

Figure 22: Principales espèces fongiques de l'habitat selon la disponibilité en eau des matériaux (Aw) (CSHPF, 2006) 185

Figure 23 : Association entre la nature du matériau et les espèces fongiques susceptibles de se développer (Andersen, 2011) 188

Figure 24 : Evolution de l'indice fongique en fonction du temps pour différents matériaux à une humidité relative de 97% et pour 2 températures d'après (Ritschkoff, 2000) 190

Figure 25 : Evolution des débits d'air neuf pour l'habitat, aux Etats-Unis, sur la période 1935-1989, d'après la norme ASHRAE 62-1989 et les précédentes (Ginestet, 2006) 193

Figure 26 : Diagramme de l'air humide (d'après http://www.crit.archi.fr consulté en janvier 2016) 196

Figure 27 : Simulation numérique d'un pont thermique (assemblage de charpente métallique), source logiciel ANSYS 197

Figure 28 : Evolution des températures et des pressions partielles de vapeur d'eau dans un mur multicouche (diagramme de Glaser) 198

Figure 29 : Cartographie des températures de surface observées à l'endroit d'un pont thermique 198

Figure 30 : Traces de moisissures dans un angle correspondant à un pont thermique (à gauche) et à une remontée capillaire (à droite) 199

Figure 31 : Mesures de protection individuelle et matériel nécessaire au traitement des surfaces contaminées (CSTB, 2015) 201

Figure 32 : Procédure de traitement des surfaces (murs, sols et plafond) contaminées (CSTB, 2015) 202

Figure 33 : Lignes directrices applicables à l'élimination d'une contamination fongique en environnement intérieur (LHVP, 2014) 202

Figure 34 : Schéma de principe d'un puits canadien (Hohotă, 2008) 205

Figure 35 : La politique de l'habitat au fils du temps 210

Figure 36 : Différentes notion d'habitat dégradé, responsabilité, textes réglementaires et principaux acteurs pouvant intervenir 211

Figure 37 : Les étapes menant à la résorption de l'habitat indigne (ARS Rhône-Alpes, 2013) 213

Figure 38 : Valeurs guides quantitatives exprimées en UFC.m^{-3} et recensées dans la publication de Rao *et al.* (1996) 220

Figure 39 : Représentation de la part des dossiers d'insalubrité du département intégrant la présence des moisissures (DIHAL, 2015) 221

Figure 40 : Taux des arrêtés d'insalubrité intégrant la présence des moisissures dans les motifs d'insalubrité par département sur l'année 2013 (DIHAL, 2015) 222

Figure 41 : Isopleth critiques pour différentes espèces fongiques (Clarke, 1999, Rowan, 1999) 339

1 Contexte, objet et champ de l'expertise

1.1 Contexte

Dans le cadre de l'action W du Plan d'actions sur la qualité de l'air intérieur, lancé en octobre 2013 par les ministères chargés de l'écologie et de la santé, un état des connaissances sur l'exposition de la population aux moisissures est demandé. Ce plan liste les actions à engager pour l'amélioration de la qualité de l'air intérieur et constitue le volet sur l'air intérieur du troisième plan national santé environnement (PNSE 3 - 2015-2019) dans la continuité des précédents Plans nationaux santé environnement (PNSE 2004-2008 et 2009-2013).

La problématique des moisissures dans le bâti est large et peut être appréhendée par différents angles d'approche :

- par type de « bâti » en considérant les bâtiments individuels et/ou collectifs (privés et/ou publics), les habitats et/ou établissements recevant du public (ERP) : écoles, crèches, établissements hospitaliers, maisons de retraite ... ou encore l'année de construction (qui conditionne le type de construction et donc les matériaux utilisés) ;
- par type de « population » : familles en situation précaire, enfants, personnes âgées,... ;
- par « zone géographique » : zones humides, zones submersibles en lien avec l'impact du changement climatique ou en faisant un focus sur certaines régions à risque;
- ou suivant le « contexte socio-économique » : par exemple les problèmes de contaminations fongiques dans les logements pouvant a priori être liés aux conditions de vie de certaines familles en situation précaire.

1.2 Objet de la saisine

L'agence a été saisie le 14 janvier 2014 par la Direction générale de la prévention des risques (DGPR) et la Direction générale de la santé (DGS) sur la problématique de développement des moisissures et la production associée de mycotoxines dans le bâti sur les 4 volets suivants (cf. annexe 1) :

- Connaissance des effets sur la santé liés aux moisissures ;
- Etat de l'art des méthodes de mesure des moisissures dans l'air intérieur, les poussières déposées au sol et les matériaux ;
- Appréciation des bâtiments concernés (type de bâtiment, nombre, paramètres de développement, ...) ;
- Appréciation des populations exposées et/ou à risque (prévalence, évaluation qualitative de l'exposition, populations sensibles).

Afin de délimiter le champ de l'expertise, il a été demandé à la DGS et la DGPR de préciser leurs priorités. Ces éléments ont été discutés avec le comité d'experts spécialisé (CES) « Evaluation des risques liés aux milieux aériens » lors de la séance du 28 février 2014 pour le cadrage des travaux d'expertise.

Suivant cette demande il a été convenu que l'expertise devait, en priorité, porter sur les logements, d'une part en raison du temps passé à l'intérieur des logements et d'autre part, en raison des données disponibles plus importantes en référence à la campagne de l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur (OQAI) publié en 2006. En second lieu, les ERP visés par la surveillance de la

qualité de l'air intérieur avec en priorité ceux accueillant des enfants et les établissements d'enseignement (ERP visés au 1°, 2° et 3° du R. 221-30 du Code de l'environnement) devaient être analysés. Puis, pourvaient être étudiés les autres ERP visés par le dispositif de surveillance de la qualité de l'air intérieur.

Est attendu un état des lieux global sur des bâtiments concernés ne se restreignant pas aux habitats dégradés ni aux personnes en situation précaire. La saisine concerne la France métropolitaine et l'outre-mer, mais la priorité est donnée à la France métropolitaine. Le cas spécifique de l'outre-mer pourrait faire l'objet d'une expertise ultérieurement.

Si la saisine cible spécifiquement les risques liés à l'exposition de la population générale, la revue des effets sanitaires liés aux moisissures devait prendre néanmoins en considération les pathologies associées à des expositions dans le cadre professionnel.

1.3 Champ de l'expertise

La santé est définie par l'OMS en 1946 comme un état de complet bien-être physique, mental et social, et ne consiste pas seulement en une absence de maladie ou d'infirmité (OMS, 1946). Les conséquences sanitaires d'un logement dégradé ont été mises en exergue par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) considérant que l'exposition aux moisissures comme facteur de risque d'asthme est associée à 83 morts par an (en considérant la quantification de l'impact sanitaire dû à l'exposition aux moisissures des environnements intérieurs en l'occurrence la mortalité et les pertes de bien-être étaient de 0,06 morts et 40 années de vie perdues pour 100 000 enfants par an[2]) (OMS, 2011a).

Trois rapports présentant un état des connaissances sur les risques liés aux moisissures dans les environnements intérieurs ont été publiés récemment. Il s'agit de :

- une revue de la littérature scientifique sur la relation entre un environnement humide ou moisi et les effets sur la santé réalisée par l'Institut of medicine (IOM) aux Etats-Unis à la demande du Centre pour le contrôle et la prévention des maladies (CDC) (IOM, 2004). Ce travail a été fait suite à l'attention médiatique dans les années 90 de cas d'hémorragies pulmonaires chez des nourrissons dans la ville de Cleveland.
- une expertise du Conseil supérieur d'hygiène publique de France (CSHPF) sur les contaminations fongiques en milieux intérieurs dressant un diagnostic, les effets respiratoires et la conduite à tenir pour y remédier (CSHPF, 2006)
- les lignes directrices de l'Organisation mondiale de la santé (OMS- Europe) concernant la protection contre les risques liés à l'humidité, à la prolifération microbienne qui en découle et à la contamination des espaces intérieurs (OMS, 2009).

Seul le rapport du CSHPF est spécifique à la question des moisissures dans les environnements intérieurs. Les deux autres ont porté plus largement sur l'humidité dans le bâti et le développement d'agents biologiques.

En plus des moisissures, la pollution biologique de l'air intérieur diverse et complexe (bactéries, virus, acariens, pollens et nombreux allergènes) est reconnue par l'OMS comme un important facteur de risque pour la santé humaine. Mais il est précisé que l'identification d'agents biologiques ou espèces spécifiques exerçant des effets sur la santé n'était pas possible en l'état des connaissances en 2009 (OMS, 2009).

Les effets sur la santé dus à l'exposition aux moisissures par inhalation concernent principalement la santé respiratoire. A noter que le CSHPF et l'OMS ont limité leur analyse à ce domaine. La difficulté de caractériser l'exposition de la population à de multiples polluants est aussi souligné

[2] la durée de la vie humaine est donnée en rapportant à l'âge de décès et l'espérance de vie.

dans ces travaux. Les données épidémiologiques reposent principalement sur la qualification de la présence de moisissures par questionnaire.

L'OMS a conclu que l'humidité est un indicateur de risque d'asthme et de symptômes respiratoires sur lesquels il faut agir.

Différentes enquêtes en France et à l'international se sont intéressées à la problématique des moisissures dans l'habitat. La question formulée associe de façon systématique les signes d'humidité et de moisissures. Si quelques études existent sur la variabilité de la présence des moisissures dans les logements en France métropolitaine, il y a en revanche très peu de littérature sur la situation dans les départements, régions et collectivités d'outre-mer (DROM-COM).

Une synthèse des études sur la caractérisation de l'exposition aux moisissures, les effets sur la santé associés ainsi que les populations et bâtiments concernés sont l'objet du présent rapport. La démarche exclut les études basées sur la seule appréhension de facteurs qualitatifs liés à l'humidité sauf si des données spécifiques aux moisissures existent notamment pour caractériser les populations et les bâtiments.

2 Méthode d'expertise

2.1 Modalité de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au groupe de travail « Moisissures dans le bâti », rattaché au CES « Evaluation des risques liés aux milieux aériens » l'instruction de cette saisine.

Le groupe de travail formé au mois de mai 2014 compte 14 experts[3] avec un champ large de compétences (médecine et mycologie médicale, épidémiologie environnementale, toxicologie humaine, métrologie (air, poussières, matériaux), microbiologie (axée sur la mycologie), analyse socio-économique, géographie de la santé, conception du bâtiment (matériaux, thermique, ventilation)). Il s'est réuni environ tous les 2 mois en séance plénière. Un fonctionnement en sous-groupe a été proposé sur les axes suivants :

- Effets sur la santé : revue des données épidémiologiques et toxicologiques liés à une exposition aux moisissures dans l'environnement intérieur
- Mesures : recensement des méthodes existantes pour la mesure des moisissures dans l'environnement intérieur et éléments sur la stratégie d'échantillonnage
- Bâtiment et renouvellement d'air : documentation des paramètres favorisant le développement des moisissures dans le bâti
- Déterminants de l'exposition et populations concernées : analyse de la littérature scientifique et grise avec un regard sciences humaines et sociales.

Les travaux d'expertise du groupe de travail ont été soumis régulièrement au CES (tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques). Le rapport produit par le groupe de travail tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

2.2 Axes de travail

Les travaux récents présentant un état des connaissances sur les risques liés aux moisissures dans les environnements intérieurs sont instructifs (IOM, 2004 ; CSHPF, 2006 ; OMS, 2009).

L'Institut of medicine (IOM) a publié en 2004 un état des connaissances sur la relation entre environnement intérieur humide et effets sur la santé. Ce travail a abouti à un classement des effets sur la santé en fonction du niveau de preuve de l'association entre l'exposition à un environnement humide ou présence de moisissures et effets sur la santé. La méthode de classification a été adaptée de celle proposée par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC).

En France, le CSHPF a mandaté un groupe de travail pour répondre aux questions de la pollution de l'air intérieur par les moisissures dont le rapport a été publié en 2006.

[3] A noter qu'en août 2014, un membre du groupe a présenté sa démission.

L'OMS s'est engagée en 2006 à élaborer des valeurs guides spécifiquement dédiées à l'air intérieur (OMS, 2006) en distinguant trois groupes de polluants (substances chimiques, agents biologiques et polluants émis par la combustion intérieure). Les travaux relatifs à l'humidité et aux moisissures ont été publiés en 2009. Dans l'impossibilité d'établir des valeurs guides, des lignes directrices concernant la prévention des risques liés à l'humidité ont été proposées ne ciblant pas spécifiquement les agents biologiques ni les moisissures (OMS, 2009).

Sur la base de ces travaux existants, le groupe de travail a plus particulièrement cherché à traiter les questions présentées ci-dessous :

Question		Méthode	Chapitre dédié
Quelles sont les méthodes de mesure les plus récentes ? Quelles sont les principales évolutions par comparaison avec les méthodes plus anciennes ?	➔	Rappel des caractéristiques biologiques et écologiques en lien avec le développement des moisissures et leur suivi Description des nouvelles méthodes de mesure en considérant les couples de prélèvement et d'analyse ressortant des données de la littérature scientifique publiées ***depuis 2006***. Comparaison des méthodes de mesures pour la caractérisation d'un logement moisi.	**Chapitre 3 Caractérisation des expositions aux moisissures dans les environnements intérieurs**
Quelles sont les nouvelles connaissances sur les effets sur la santé liés aux moisissures dans les environnements intérieurs ?	➔	Description des données issues d'études épidémiologiques, toxicologiques et cliniques publiées ***depuis 2006*** par pathologie. Classement des pathologies par niveau de certitude et confrontation avec les conclusions ressortant des travaux antérieurs sur ce sujet (OMS, 2009 ; CSHPF, 2006 ; IOM, 2004) Discussion sur la proposition d'un seuil[4] protégeant la santé de la population générale. Cette mise à jour de l'état des connaissances a été faite à partir des données de la littérature scientifique.	**Chapitre 4 Effets sur la santé liés aux moisissures**
Quelles sont les populations concernées ?	➔	Définition des populations à risque à partir de la description des déterminants sociaux de l'exposition aux moisissures de la population générale et de la sensibilité individuelle Analyse des données françaises sur les caractéristiques des occupants associées à la présence de moisissures dans le logement. Ce travail a été réalisés à partir des données de la littérature scientifique, de la littérature grise ainsi que l'analyse spécifique des données de l'OQAI et de la consultation des acteurs de terrain en France.	**Chapitre 5 Populations à risque**
Quels sont les bâtiments concernés ?	➔	Description des causes et moyens techniques de prévention et de remédiation du développement des moisissures dans le bâti Analyse des données françaises sur les caractéristiques des logements associées à la présence de moisissures dans le logement. Ce travail a été réalisé à partir des données de la littérature scientifique, de la littérature grise ainsi que que l'analyse spécifique des données de l'OQAI et de la consultation des acteurs de terrain en France.	**Chapitre 6 Bâtiments : développement des moisissures, prévention et remédiation**
Quels sont les outils de gestion existants pour	➔	Identification des mesures de gestion de la problématique de contamination du bâti par des moisissures.	**Chapitre 7 Gestion : politiques publiques et**

[4] Un seuil sanitaire correspond à un niveau de concentration en dessous duquel aucun effet sur la santé n'est attendu pour la population générale

Question	Méthode	Chapitre dédié
prévenir et remédier aux développements de moisissures dans le bâti ?	Auditions des acteurs principalement institutionnels et associatifs. Consultation d'organismes internationaux analogues à l'Anses et de ministères principalement chargés de la santé ou de l'environnement sur leurs démarches pour évaluer l'impact ou les risques sur la santé ainsi que les dispositions réglementaires définies pour prévenir ou gérer la contamination du bâti par des moisissures Analyse complémentaire des réglementations et des démarches à l'international à partir de données de la littérature grise.	**réglementation**

2.3 Revue de la littérature

La revue de la littérature réalisée dans le cadre de ces travaux d'expertise a pour objectif d'actualiser l'état des connaissances sur les effets sur la santé et la mesure des moisissures dans l'environnement intérieur. Des éléments concernant les facteurs de développement des moisissures et déterminants de l'exposition peuvent être documentés par le biais de cette revue bibliographique.

Les étapes suivies pour la réalisation de la revue de la littérature sont décrites dans la Figure 1 et se base sur le diagramme de flux PRISMA 2009 qui définit les lignes directrices pour rapporter les revues systématiques et les méta-analyses (Gedda, 2015).

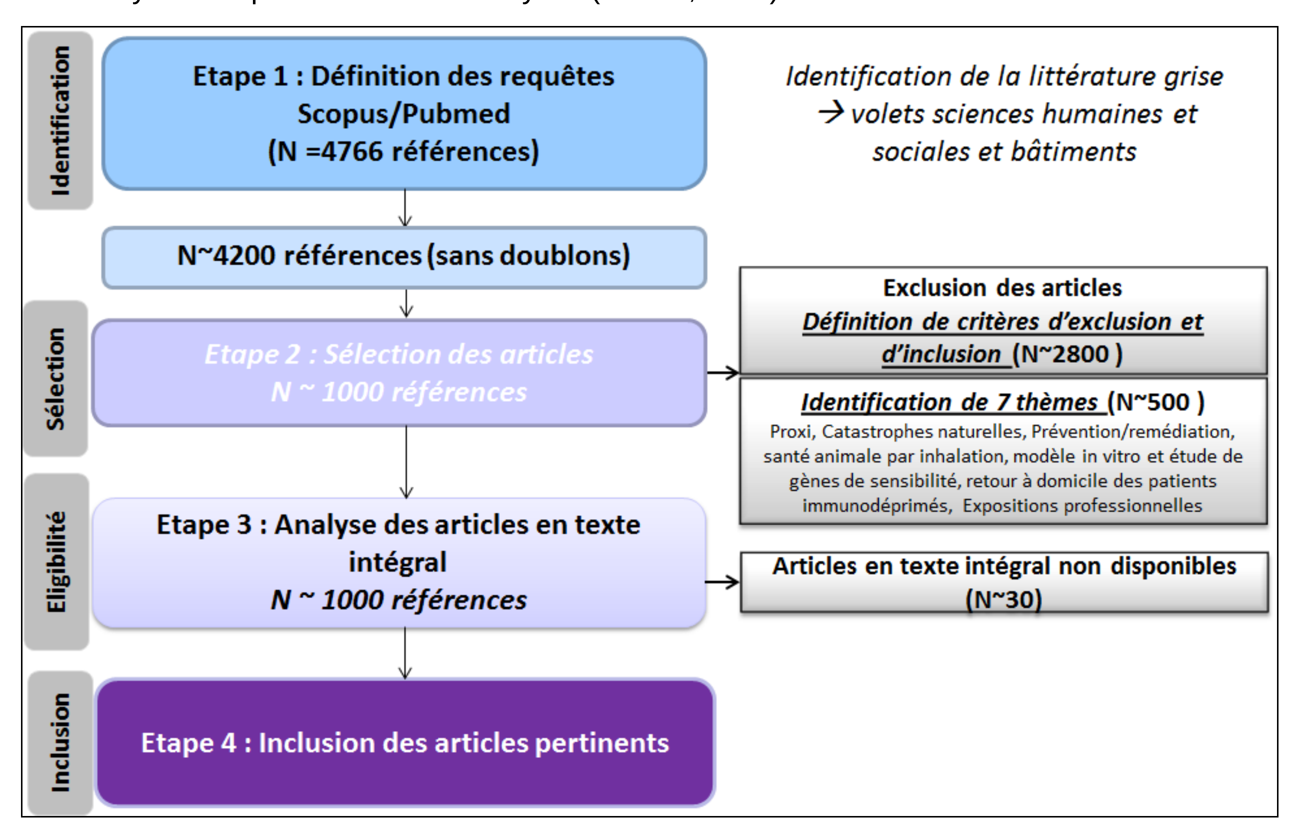


Figure 1 : Etapes de la revue de la littérature suivies pour l'expertise sur les moisissures dans le bâti

Pour l'étape d'identification des articles (Etape 1), des requêtes ont été lancées dans les bases de données bibliographiques Pubmed et Scopus pour la période 2006 à 2014, et avec plusieurs mots clef regroupés selon 5 thèmes :

- *#A Pathologies, #B: Agents biologiques, #C: Mesures, #D: Facteurs d'exposition, #E: bâtiment et renouvellement d'air*

Les premières équations établies avec un champ large de mots clés et de combinaisons ont amené à des résultats de l'ordre de 30 000 à plus de 100 000 articles selon les 2 questions ciblées. Pour optimiser les équations de recherche, il a été demandé à chaque expert de fournir dans son domaine de compétence au maximum 5 articles de référence qui entrent dans le champ de l'expertise sur les moisissures. Une analyse des mots clés des 45 articles de référence communiqués a permis de retenir les requêtes détaillées en Annexe 3 en lien avec un nombre limite de publications à trier en vue de l'analyse dans l'expertise et se limitant aux articles en anglais et en français.

Des critères d'exclusion et d'inclusion ainsi que l'identification de thèmes particuliers couverts par les données de la littérature ont été définies pour la sélection des articles entrant dans le champ de l'expertise (Etape 2). Elles sont présentées en Annexe 3. Les articles sélectionnés à partir des titres et résumé couvrent les problématiques suivantes :

- Pathologies liées à une aérocontamination par les moisissures dont les pathologies professionnelles : épidémiologie, cas cliniques groupés, toxicologie chez l'animal par inhalation. Les effets sur la santé étudiés relèvent de la santé respiratoire et de la santé mentale. La notion de syndrome du bâtiment malsain[5] qui est plus large que la santé mentale a été limitée aux données d'exposition non professionnelle.
- Contamination du bâtiment : mesures dans l'environnement intérieur, matériaux, conditions climatiques et thermiques, systèmes aérauliques et équipements mécaniques, systèmes de traitement.
- Populations : comportements, démographie, caractéristiques de lieux, comparaison de populations.

Les étapes d'éligibilité et d'inclusion (Etapes 3 et 4 – cf. Figure 1), déclinées spécifiquement en fonction des questions posées dans cette expertise, seront décrites dans les chapitres dédiés dans ce rapport d'expertise.

Des publications supplémentaires ont été identifiées par les experts du groupe de travail en lien avec leurs bases de données et leurs veilles bibliographiques dans leurs domaines de compétences notamment pour actualiser la revue de la littérature après la date de réalisation de la requête (novembre 2014).

2.4 Données du CSTB-OQAI

Une partie des données présentées par la suite, relatives à la situation française de contamination des bâtiments en France, est issue d'une étude commanditée par l'Anses auprès du Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB) et plus précisément de l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur (OQAI) afin de réaliser une extraction et une analyse de leurs données.

Les objectifs de cette étude étaient :

- d'estimer le nombre de logements et ménages français concernés par la problématique des moisissures ;
- de rechercher les déterminants de la contamination fongique et de l'exposition aux moisissures dans les logements français à partir des données de la campagne nationale « Logements » (CNL) par différentes approches discutées et validées par le groupe de travail ;

[5] sick building syndrome – SBS. Dénomination de "syndrome collectif inexpliqué" proposée par l'InVS

- de transmettre à l'Anses les éléments dont dispose l'OQAI sur la contamination fongique dans les bâtiments, via ses autres études. Il s'agit notamment des données des programmes « Ecoles » et « Bâtiments performant en énergie » (BPE). S'agissant des écoles, les études suivantes ont été recensées :
    - Étude dite de "déploiement des indices" initiée dans trois villes (Clermont-Ferrand, Marseille, Nantes) en 2010 dans 18 écoles et 82 salles de classe, laquelle inclut une détermination des moisissures visibles et un calcul de l'indice de contamination fongique,
    - Étude pilote de la campagne nationale « Ecoles » de l'OQAI menée dans 17 écoles et 51 salles de classe dans l'agglomération de Clermont-Ferrand et incluant une détermination des moisissures visibles et un calcul de l'indice de contamination fongique proposé par le CSTB (cf. 5.2.9.2),
    - Étude européenne SINPHONIE menée dans 123 écoles dont 5 en France instrumentées par le CSTB et incluant une détermination des moisissures visibles ainsi que le genre et les espèces de moisissures prélevées dans les poussières déposées.

L'OQAI a mené entre septembre 2003 et décembre 2005 une campagne nationale dans 567 résidences principales en France métropolitaine continentale, représentatives du parc national de logements. Le tirage au sort des logements enquêtés s'est fait sur la base du fichier FILOCOM des adresses des foyers fiscaux, qui regroupe l'adresse de tous ceux qui établissent une déclaration d'impôts, qui sont sujets à la taxe d'habitation ou à la taxe foncière. Seules les adresses des résidences principales ont été prises en compte. Les ménages qui ne font aucune déclaration échappent à cet échantillonnage et ne sont pas représentés.

L'échantillonnage suit ensuite un plan de sondage précis avec tirage au sort des communes (certaines grandes villes sont automatiquement incluses), puis tirage au sort des sections cadastrales, puis des adresses, puis du bâtiment, étage, porte (Golliot, 2003). Si l'occupant refuse, une seconde adresse est tirée au sort sur la liste (les logements voisins de celui qui refuse ne sont pas pris en compte). Sur les 700 accords de participation initialement prévus, 567 accords ont pu être obtenus.

Une seule campagne de mesure a été réalisée au sein de chaque logement, soit en période de chauffe, soit en période hors-chauffe selon la date de l'enquête.

L'analyse des données de la campagne nationale « Logements » de l'OQAI a été discutée avec le groupe de travail.

Une première exploitation des données visait à déterminer si les logements où des moisissures étaient présentes étaient associés à une typologie particulière de logements, de ménages ou d'habitudes de vie. Ainsi plusieurs variables ont été élaborées à l'échelle du logement (présence de moisissures visibles, nombre de pièces du logement où des moisissures ont été détectées, odeur de moisi dans au moins une pièce du logement, indice de contamination fongique, ...) et croisées avec les typologies de logements préétablies.

Des analyses bivariées ont été menées afin d'étudier l'association entre chacune des variables de l'enquête en lien avec le logement, le ménage ou les habitudes de vie, prises indépendamment les unes des autres, et celle définissant la contamination aux moisissures des logements (surface cumulée contaminée par les moisissures présentes dans des pièces de vie rapportée au nombre de pièces de vie du logement / exprimée en m² par pièce de vie). En effet, la campagne nationale « Logement » compte plus de 600 variables d'enquêtes et de paramètres mesurés. La première étape de l'analyse bivariée a donc été de regarder deux à deux si chacune de ces variables était ou non associée à la présence de moisissures dans les pièces de vie. Ces données abordent la question des déterminants de l'exposition aux moisissures présentés dans les différentes parties des chapitres 5.2, 5.3 et 6.1. Cependant, chacune des associations observées entre une variable dite explicative et la variable d'intérêt pose question quant à savoir s'il s'agit d'un lien fort ou d'une simple coïncidence. Chacune de ces variables est associée avec de multiples autres, si bien qu'il est possible que des liens physiques soient masqués par des associations fortuites.

Pour rechercher les déterminants de l'exposition aux moisissures, une analyse multivariée entre la présence de moisissures et les variables liées au logement prenant en compte certaines variables prédéfinies en lien avec le logement, le ménage ou les habitudes de vie a été réalisée. Les variables prises en compte ont été sélectionnées à partir des analyses bivariées menées précédemment.

Les variables associées à la présence de moisissures sont souvent très dépendantes les unes des autres. Des analyses multivariées ont été réalisées afin d'identifier les facteurs les plus explicatifs de la présence de moisissures visibles dans les pièces de vie. Compte tenu de la distribution particulière de la variable définissant la contamination du logement par des moisissures, deux approches ont été initiées. D'une part, différents modèles statistiques (arbre de classification, analyse discriminante, régression logistique) ont été appliqués pour prédire la présence / absence de moisissures visibles dans les logements et quantifier la contribution des variables. D'autre part, un autre modèle (régression linéaire multiple) a été utilisé afin d'identifier les facteurs qui expliquent au mieux l'intensité de la contamination par les moisissures, définie par l'étendue de la surface contaminée. Malgré l'abondance de variables disponibles, la performance des modèles n'est pas optimale : il est vraisemblable qu'une partie de l'information nécessaire à la bonne prédiction de la présence de moisissures ne soit pas disponible.

2.5 Consultations

2.5.1 En France

Le recueil de données et le retour d'expertise des Agences régionales de santé (ARS) a été réalisé notamment par l'Anses, sur la base d'un questionnaire présenté en Annexe 4, en lien avec les activités des ARS en particulier dans le cadre des Plans régionaux de santé-environnement (PRSE) et de leurs missions de lutte contre l'habitat insalubre régie par le Code de la santé publique (articles L.1311-4, L1331-22 à L.1331-31).

Vingt et un questionnaires complétés ont été adressés à l'Anses sur les 5 mois de consultation (d'avril à septembre 2015), correspondant à 15 régions et 2 régions d'outre-mer (soit plus de 60% des régions)[6] : Alsace, Aquitaine, Auvergne, Basse Normandie, Centre, Champagne-Ardenne, Corse, Haute Normandie, Ile-de-France, Languedoc-Roussillon, Limousin, Lorraine, Pays de la Loire, Poitou-Charentes, Rhône-Alpes, Guadeloupe et Guyane.

Cette consultation a permis d'enrichir les travaux d'expertise en recueillant des situations concrètes et des données permettant de mieux appréhender la problématique de la contamination du bâti par les moisissures en France. Elles sont décrites dans le chapitre 7.

2.5.2 En Europe et au niveau international

Une consultation internationale a été réalisée en coordination avec la Direction des affaires européennes et internationale de l'Anses auprès d'organismes analogues à l'Anses, principalement européens et nord-américains. L'objectif était de connaitre les approches utilisées par d'autres pays pour apprécier les risques sanitaires/impacts sanitaires liés aux moisissures, de recueillir les perspectives de recherche et de développement dans ce domaine ainsi que d'identifier l'existence d'une réglementation et les moyens de prévention, de lutte et d'éradication.

L'agence a contacté 26 organismes, présentés en Annexe 5, qui ont été invités à répondre à un questionnaire (cf. Annexe 6) reprenant les objectifs de la consultation et les volets de l'expertise de l'Anses. Au total, 18 réponses ont été reçues sur une durée de 6 mois de consultation (de décembre 2014 à mai 2015), soit un taux de réponse de 73%, correspondant à 11 pays :

[6] Avant la mise en application de la réforme territoriale.

- Europe : le bureau Europe de l'OMS, l'Allemagne, la Finlande, la Grèce, la Hongrie, l'Italie, la Norvège, les Pays-Bas, le Portugal et la Suède ;
- Amérique du Nord : le Canada et les Etats-Unis.

Le questionnaire a été complété par 13 organismes. Cette consultation européenne et internationale a permis d'enrichir les travaux d'expertise en décrivant les principales approches à l'étranger dans les chapitres 7.1.2 et 7.2.2 du présent rapport d'expertise.

Il est important de noter que les informations recueillies ne sont pas exhaustives et reposent sur les éléments communiqués par les personnes consultées par voie électronique et sur des compléments d'informations obtenus sur certains sites internet des organismes ou ministères concernés.

2.6 Auditions

Une consultation de certaines parties prenantes notamment associatives et institutionnelles a été proposée afin de recueillir leurs expériences et leurs attentes potentielles sur la problématique de contamination des logements par les moisissures.

De plus, il a été constaté en France que de nombreux acteurs sont impliqués sur cette problématique et qu'il est difficile de connaître les interactions existantes entre eux, ce sujet étant par ailleurs peu voir pas traité dans la littérature disponible.

L'organisation d'auditions selon 3 thématiques et le format débats réunissant plusieurs acteurs rattachés à chaque thème sur une demi-journée a été retenue par le groupe de travail :

- Audition sur le thème « Santé » tenue le 3 avril 2015, en présence de 8 experts du GT Moisissures et réunissant deux personnes du service communal d'hygiène et santé (SCHS) de la ville de Montreuil, un médecin pneumologue à l'Assistance publique des hôpitaux de Paris (APHP) représentant de la Société Pédiatrique de Pneumologie et d'Allergologie et un conseiller médical en environnement intérieur (CMEI) au Laboratoire d'hygiène de la ville de Paris (LHVP).
- Audition sur le thème « Procédures administratives » organisé le 16 septembre 2015, avec la participation de représentants d'Agence régionale de santé – Délégation territoriale (ARS-DT) (Centre et Pays de la Loire), de la Délégation interministérielle à l'hébergement et à l'accès au logement (DIHAL).
- Audition sur le thème « Intervention dans le bâti » organisé aussi le 16 septembre 2015, avec la participation de représentants de l'Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie (ADEME), Agence Lutte Habitat Indigne, Conseil Alhiconseil, ARS/DT (Rhône, Haute Normandie), Medieco - Ingénierie de santé dans le bâti et l'urbanisme.

Des auditions téléphoniques ont été organisées pour certains intervenants n'étant pas disponibles aux dates proposées. Il s'agit de :

- La Société française de mycologie médicale (SFMM)
- La Fédération Solidaires pour l'habitat (SOLIHA (ancien PACT))

La Division « Agents biologiques et aérocontaminant » de la Direction Santé Confort du CSTB a été invitée à présenter ses activités dans le cadre des travaux du GT Moisissures lors de la réunion du 24 juin 2014.

Les comptes rendus de ces auditions sont consultables en Annexe 7.

2.7 Prévention des risques de conflits d'intérêts.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'agence (www.anses.fr).

3 Caractérisation des expositions aux moisissures dans les environnements intérieurs

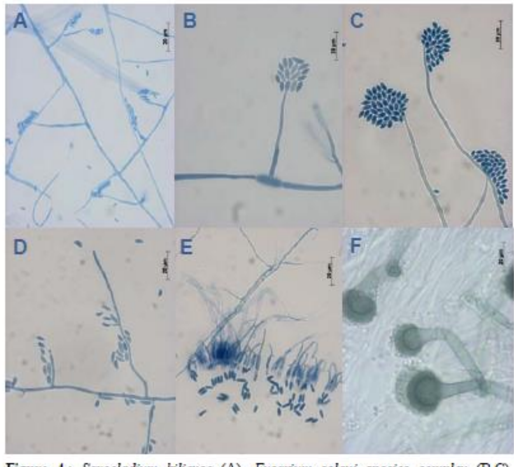
L'exposition se réfère au contact de l'Homme avec un polluant. Le document guide sur l'évaluation des expositions du Programme international sur la sécurité chimique (IPCS) souligne la complexité de l'évaluation de l'exposition qui varie selon les domaines d'application. Les approches quantitatives évoluent au cours du temps en lien avec le développement de nouvelles technologies qui souvent conduisent à un niveau accru de détail et de transparence ainsi qu'à une harmonisation dans les résultats obtenus (IPCS, 2009).

L'inhalation est habituellement considérée comme la voie d'exposition majoritaire pour les moisissures dans les environnements intérieurs. Dans cette hypothèse, la recherche des spores fongiques dans l'air est généralement réalisée. Les études les plus récentes se sont intéressées aux fragments fongiques et aux poussières déposées (IOM, 2004).

Un manque de consensus sur la méthode d'évaluation de l'exposition aux moisissures est souligné depuis de nombreuses années notamment dans les rapports de l'IOM (2004), de l'OMS (2009) et du CSHPF (2006). Cela peut expliquer le nombre relativement important d'études qui ont échoué à démontrer une association directe entre l'exposition quantitative aux moisissures et effets sur la santé. Cette partie traite des questions d'évaluation de l'exposition liée aux moisissures en décrivant les caractéristiques biologiques et facteurs de développement dans les environnements intérieurs ainsi que les méthodes de mesure.

3.1 Moisissure, caractéristiques biologiques et facteurs de développement en environnement intérieur

Parmi les champignons, on distingue les champignons microscopiques ou micromycètes (Figure 2(a)) qui ont été découverts grâce au microscope et communément rassemblés sous le terme de moisissures, et les champignons avec fructifications visibles sous forme de chapeau ou macromycètes (Figure 2(b)).



(a) Micromycètes
Extrait du rapport d'activité 2014 du Centre national de référence Mycoses Invasives et Antifongique de l'Institut Pasteur (2015)



(b) Macromycètes
Illustration tirée du Larousse médical de 1912

Figure 2 : Illustration des champignons de l'environnement

Le terme « moisissures » fait référence dans le langage courant aux tâches se développant entre autres sur les aliments ou dans l'habitat et ayant une texture particulière pouvant être qualifiée de « laineuse, poudreuse ou cotonneuse » (Méheust, 2012). Leur développement dans les environnements intérieurs repose sur des conditions favorables notamment la présence d'humidité dans différents éléments du bâti (les cloisons, la matière isolante, les faux plafonds,…) de différente nature (le carton, le papier, le tissu…). Une humidité excessive peut être causée par des fuites d'eau, des inondations, des infiltrations ou de la condensation sur les fenêtres et les murs. Certains signes apparents d'humidité des supports comme la peinture boursoufflée, des taches suspectes au plafond ou sur le bas des murs, une odeur d'humidité ou de moisi sont en général recherchés dans un bâtiment. Le développement de moisissures peut se faire dans des espaces cachés d'une habitation. Les moisissures se développent sous forme de filaments (ou mycélium) parfois pigmentés en noir suivant les espèces. L'apparition de couleurs sur les surfaces moisies correspond à un stade avancé de développement des moisissures avec production de spores qui peuvent se retrouver dans l'air.

Le mycélium, ensemble de filaments microscopiques ou hyphes, assure le maintien, la croissance et la multiplication des moisissures. Lors de leur développement, les moisissures forment des fructifications à partir du mycélium regroupées sous le terme générique de spores, souvent produites en grande quantité (plusieurs millions par cm²). Elles apparaissent dans certaines conditions, par exemple quand les ressources du support, sur lequel la moisissure se développe, s'appauvrissent. Ces spores de quelques microns, invisibles à l'œil nu, sont les éléments de dispersion des moisissures et sont véhiculées par l'eau et surtout par l'air afin de coloniser de nouveaux milieux (extérieur ou intérieur) si les conditions d'humidité et les facteurs biotiques leurs sont favorables.

Ainsi, les spores produites dans le milieu extérieur entrent dans les habitations mais ne s'y développeront que si les conditions d'humidité et les conditions biotiques leurs sont favorables. Les spores sont transportées dans le flux d'air en général en petits agrégats de spores dont tous les éléments ne sont pas en capacité de se développer. Le dépôt aléatoire des spores sur les surfaces crée une multitude de micro-colonies à partir des spores qui ont germé. La colonie s'accroît de façon centrifuge à partir de la spore, par la production de filaments mycéliens. Ainsi le plus souvent les surfaces sont colonisées par une multitude de colonies qui confluent. Leurs natures peuvent être différentes et créer ainsi une mosaïque de micro-colonies ou être issue d'une même espèce et réaliser un tapis uniforme.

Le mode de production des spores peut être observé au microscope et est le principal élément d'identification des genres et des espèces fongiques. La distinction des genres est relativement aisée. L'identification à l'espèce est plus difficile et demande une compétence particulière (Figure 3).

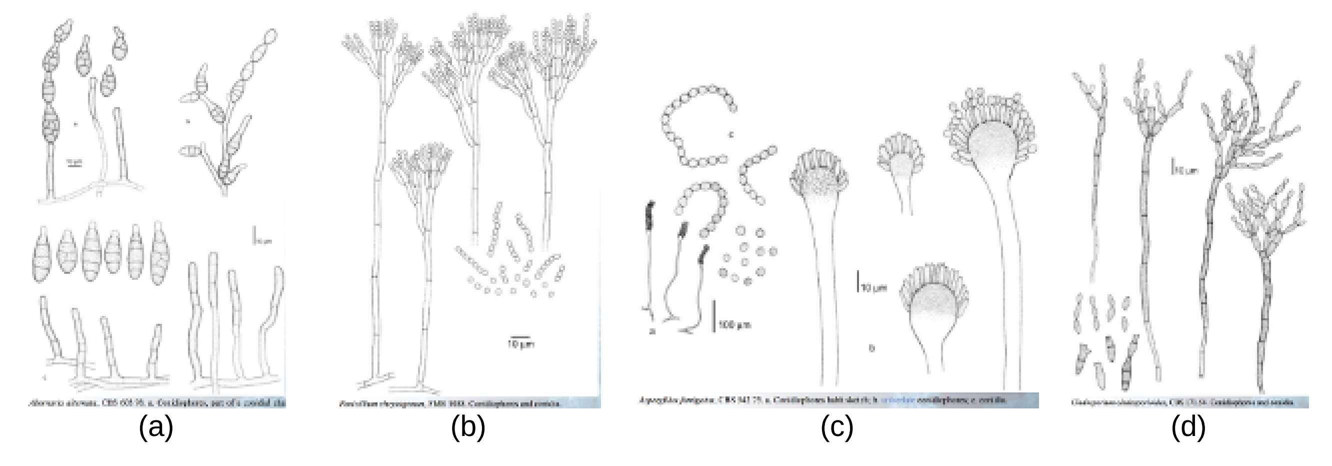


Figure 3 : Représentation schématique de l'observation microscopique de 4 espèces fongiques : (a) *Alternaria alternata*, (b) *Penicillium chrysogenum* ; (c) *Aspergillus fumigatus*, (d) *Cladosporium cladosporioides* (de Hoog, 2000)

Il existe une très grande variété d'espèces, probablement plusieurs millions, et qui ne répondent pas à une classification scientifique homogène. Ce sont des eucaryotes regroupés dans un règne à part (les Fungi du latin *fungus*) caractérisé par l'absence de chlorophylle, et donc l'absence de photosynthèse, se nourrissant directement par l'absorption des molécules organiques présentes dans le milieu extérieur. Des règles internationales existent depuis le XVIIIème siècle pour nommer les champignons dont les moisissures. Le nom comporte un nom de genre commençant par une majuscule et suivi d'un nom d'espèce. Un genre contient plusieurs espèces. La taxonomie évolue cependant en lien avec l'avancement des connaissances et le développement de nouvelles technologies microbiologiques. La dénomination des moisissures est liée à cette classification évolutive et complexe.

Le moyen le plus simple et le plus ancien pour l'étude des moisissures est la culture sur boite de Petri contenant des milieux gélosés nutritifs. Cependant, comme les espèces de macro-champignons qui ne poussent qu'à certains endroits, toutes les moisissures ne pousseront pas d'une façon uniforme sur tous les milieux de culture. De nombreuses espèces ne seront pas capables de croître sur des milieux simples, probablement parce que certains nutriments qui leur sont très spécifiques en sont absents. Ainsi, seules les espèces qui poussent facilement sur les milieux de cultures habituels sont en général étudiées et sont donc les mieux connues. Cet aspect réducteur artéfactuel de la variété des moisissures du aux milieux de culture utilisés est à considérer pour l'analyse de la diversité des moisissures dans des milieux naturels. L'identification des moisissures est maintenant complétée par l'analyse de séquences de gènes ou de loci qui sont sources de constantes réassignations taxonomiques, montrant les limites des anciennes identifications basées sur l'identification phénotypique.

Les principales espèces fongiques cultivables et donc identifiées dans l'environnement intérieur sont décrites dans le rapport du CSHPF (2006). Ce sont principalement les moisissures du genre *Aspergillus (A. fumigatus, A. niger, A. versicolor, A. flavus, A. nidulans, A. glaucus*), du genre *Penicillium (P. aurantiogriseum, P. brevicompactum, P. chrysogenum, P. citrinum, P. glabrum*) et du genre *Cladosporium (Cladosporium cladosporioides et Cladosporium sphaerospermum*). Les autres moisissures fréquemment rencontrées dans les logements sont *Acremonium strictum, Alternaria alternata, Aureobasidium pullulans, Botrytis cinerea, Chaetomium globosum, Epicoccum nigrum, Fusarium solani, Phoma glomerata, Stachybotrys chartarum, Trichoderma harzianum, Ulocladium botrytis* pour les Ascomycota, phylums les plus représentés, *Lichtheimia (Absidia*) corymbifera, Mucor (*M. circinelloides, M. hiemalis, M. racemosus*) et *Rhizopus* spp pour les Mucoromycotina, *Serpula lacrimans* (Mérule) pour les Basidiomycota.

Il est probable que le développement de nouvelles méthodes d'évaluation, comme le séquençage haut débit, amènera à considérer de nouvelles espèces, comme par exemple les basidiomycètes, dont la présence est sous-estimée du fait de leur difficulté à fructifier sur les milieux de culture usuels.

En plus des constituants de la paroi (polysaccharides tels que chitine, glucanes, galactomannanes, cellulose), ou de la membrane (ergostérol), les moisissures sont capables de synthétiser des allergènes ou des substances chimiques (mycotoxines, composés organiques volatils microbiens (COV_m)) pouvant être libérées dans leur environnement (Figure 4). Contrairement aux autres constituants, appelés « métabolites primaires », les mycotoxines ou COVm, issus du métabolisme secondaire, ne sont pas indispensables au développement et à la survie du champignon filamenteux. La production de ces métabolites primaires et secondaires est inconstante et dépendante du support de croissance et des conditions environnementales (comme la température ou l'humidité par exemple), qui conditionnent les caractéristiques de développement de la moisissure. Ainsi, par exemple, la présence dans un logement d'une espèce fongique productrice de mycotoxines ne sera pas systématiquement associée à la présence des dites mycotoxines sur le support ou dans l'air.

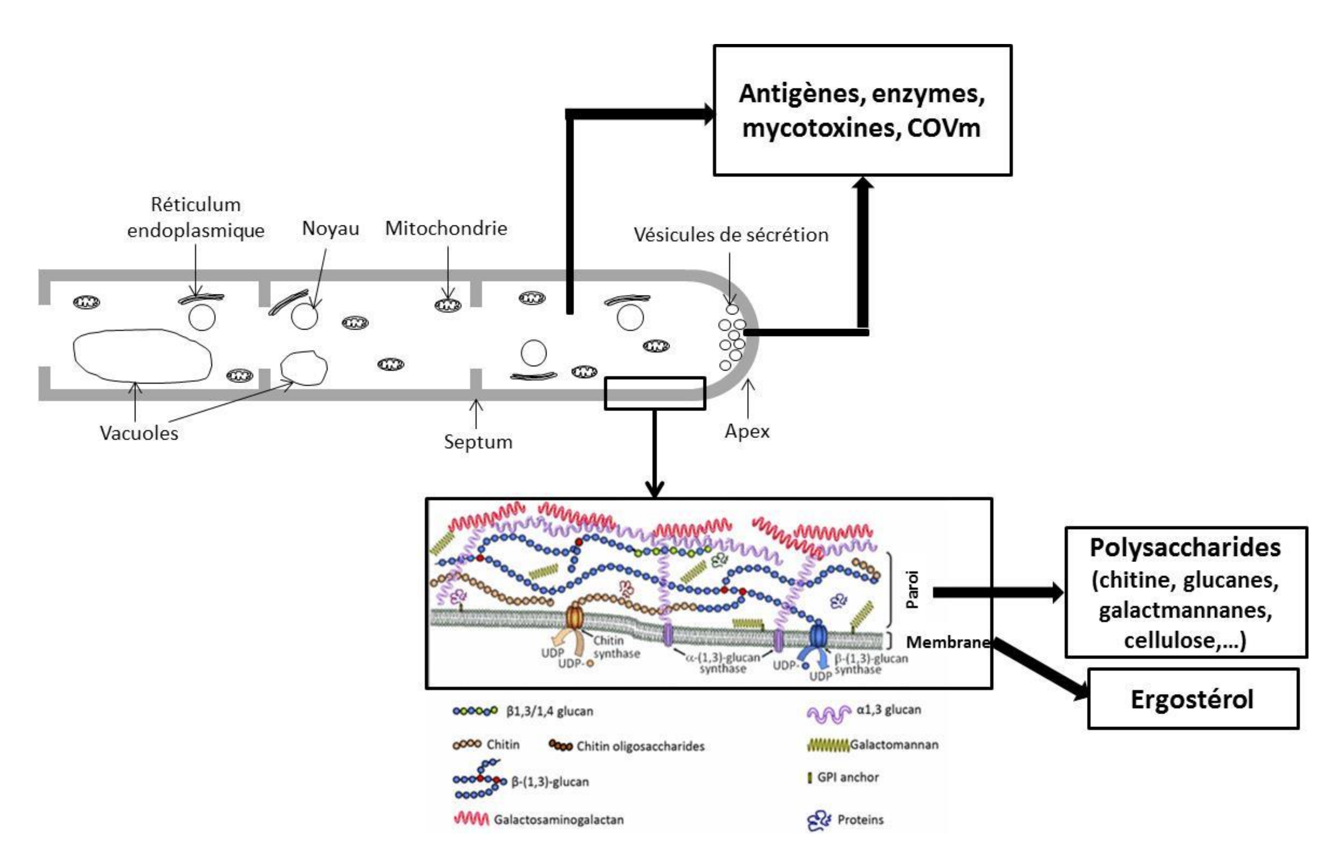


Figure 4 : Représentation schématique d'une hyphe et de sa paroi (paroi d'Aspergillus fumigatus d'après Beauvais, 2014) et origine des constituants libérés au cours de la croissance des moisissures

3.2 Présentation des développements métrologiques et analytiques

Des méthodes diverses pour appréhender l'exposition aux moisissures dans les environnements intérieurs ont été proposées depuis de nombreuses années soulignant le manque de consensus dans ce domaine. Ce chapitre s'attache à décrire dans un premier temps tous les systèmes de prélèvement existants pour la caractérisation de l'exposition aux moisissures que ce soit dans les environnements intérieurs ou non. Suivent les éléments techniques à considérer pour la stratégie d'échantillonnage. Ensuite les techniques d'analyse les plus utilisées et celles développées récemment, parmi lesquelles le dosage d'antigènes et de composés volatils. Les techniques assez génériques ainsi que les méthodes spécifiques identifiant les espèces sont aussi présentées. Enfin, une analyse globale des méthodes décrites suivie d'une comparaison des méthodes pour la caractérisation de la contamination fongique dans les environnements intérieurs est faite en dressant les critères de faisabilité et les avantages et limites sur les méthodes.

Une annexe technique fournissant des compléments d'information dédiés au chapitre 3.2 sur les développements métrologiques et analytiques est proposée en Annexe 8. Elle s'articule en trois parties discriminant les données complémentaires selon :

1/ l'analyse par culture (Annexe 8.1),

2/ par technique de biologie moléculaire (Annexe 8.2),

3/ portant sur la recherche de composants ou métabolites fongiques (Annexe 8.3).

Elle valorise le détail des six normes internationales (ISO 16000-16 à 21) se rapportant aux moisissures déclinées en normes françaises entre février 2009 et novembre 2014 mais aussi le recueil des données de la littérature relative à la mise en œuvre des méthodes de mesure sur le terrain pour caractériser la contamination fongique.

3.2.1 Techniques de prélèvement

3.2.1.1 Méthodes décrites dans le rapport du CSHPF (2006)

Le troisième chapitre du rapport du CSHPF présente les techniques d'échantillonnage et d'analyse des moisissures dans l'habitat et aboutit à un consensus pour une plateforme méthodologique décrite en partie A de l'Annexe 8.1. Le groupe de travail du CSHPF recommande d'effectuer à la fois des prélèvements d'air, de surface et de poussières.

La description de ces techniques est ici associée aux normes d'échantillonnages parues depuis.

Prélèvements d'air

L'étude de l'air est ce qui semble le plus représentatif de l'exposition individuelle, car c'est l'étude directe de ce que nous respirons. Cependant, les concentrations en moisissures dans l'air sont sujettes à des variations, liées par exemple à l'activité dans un environnement, à la présence de vecteurs de dissémination comme les acariens, aux variations de température et d'hygrométrie qui conditionnent la libération des spores fongiques et aux variations de flux d'air. Ainsi la durée du prélèvement doit être suffisamment longue ou doit être répétée pour prendre en compte ces variations.

a) Impaction sur milieu solide

Son principe repose sur l'accélération de l'air prélevé par passage au travers d'une section réduite et brutalement dévié par une surface de collection solide (gélose ou surface adhésive).

L'efficacité de l'impaction dépend de plusieurs facteurs tels que la taille, la densité et la vélocité initiale des particules ainsi que des paramètres physiques du dispositif de collecte (dimension de la buse, débit du gaz porteur, distance entre la buse et la surface de collection). Cette efficacité dépend aussi de l'humidité du support qui permet une adhésion des conidies. C'est pourquoi des volumes trop importants ou des débits trop rapides ne permettent pas une impaction efficace. Une des conséquences est l'existence d'un optimum de temps de prélèvements au-delà duquel les spores ne s'impactent plus.

Il existe une centaine de dispositifs par impaction commercialisés dont des impacteurs à fente, impacteurs centrifuges mais ce sont les impacteurs à crible actuellement les plus utilisés pour les prélèvements d'air intérieur.

Pour ce qui concerne les impacteurs à crible, le flux d'air est aspiré à travers une plaque perforée d'orifices et les spores sont collectées sur un milieu de culture gélosé. Les impacteurs peuvent être simples ou en cascade (type appareil d'Andersen) permettant une séparation granulométrique des particules. Les durées de prélèvements sont brèves pour éviter la dessiccation et la saturation de la gélose. Différents systèmes compacts, autonomes et faciles d'utilisation sont disponibles sur le marché. Ils semblent avoir des performances similaires. Après incubation des milieux de culture, les colonies sont dénombrées et les moisissures sont identifiées.

Les principaux avantages sont la praticabilité du dispositif, sa simplicité d'utilisation et la réalisation d'un prélèvement sur des milieux de culture directement analysables après incubation, sans étape intermédiaire de rinçage ou d'ensemencement. Les principaux inconvénients sont la durée limitée du prélèvement, qui ne couvre pas les variations temporelles de la contamination de l'air. De plus les possibilités d'analyses sont limitées à la culture et le transport des prélèvements jusqu'au laboratoire doit se faire rapidement.

La norme NF ISO 16000-18 « Détection et dénombrement des moisissures – Echantillonnage par impaction » publiée en septembre 2011 indique les exigences d'échantillonnage de courte durée (1 min à 10 min) des moisissures dans l'air intérieur par impaction sur milieu gélosé solide. Les boîtes de gélose sont ensuite traitées selon les principes de la norme NF ISO 16000-17.

Le diamètre de coupure des impacteurs doit être de préférence de 1 µm ou moins ; il ne doit pas dépasser 2 µm pour permettre un échantillonnage efficace des petites spores.

Il est conseillé de prélever des volumes d'air différents en parallèle (par exemple 2 x 50L et 2 x 100L) à chaque point d'échantillonnage ainsi qu'un blanc de terrain. Un minimum de quatre boîtes de gélose DG18 et de quatre boîtes de gélose malt ou dextrosée à la pomme de terre sont donc nécessaires pour chaque point de prélèvement. Des volumes d'échantillonnage inférieurs à 50 L ne sont pas recommandés en raison de l'erreur de détermination du volume échantillonné due au volume mort du dispositif de prélèvement.

Le risque de dessiccation pendant l'impaction est faible en raison des courtes durées d'échantillonnage et de l'impaction directe sur les boîtes de gélose.

L'intervalle optimal du nombre de colonies pour le dénombrement est de 10 à 100 colonies par boîte de gélose. Par conséquent, il est essentiel que le volume d'échantillonnage soit ajusté en fonction de la concentration attendue dans l'air pour éviter la surcharge des boîtes qui conduit à une sous-estimation de la concentration ou à un nombre de colonies trop faible par boîte pour obtenir des résultats statistiquement valides. Il est recommandé de réaliser plusieurs prélèvements avec des durées d'échantillonnage différentes lorsque le niveau de concentration en spores fongiques attendu est inconnu.

La partie C de l'Annexe 8.1 valorise le recueil des données de la littérature relative à la mise en œuvre de la mesure par impaction en milieu solide sur le terrain.

b) Filtration

L'air est aspiré à travers un filtre qui retient les particules de diamètre supérieur à la taille de ses pores (de 0.001 à 10 µm). Différentes natures de filtres sont disponibles.

L'avantage est la diversité des méthodes d'analyses possibles sur ces prélèvements : le filtre est observé directement au microscope ou ensemencé. L'ensemencement du filtre peut être direct ou après rinçage. Le liquide de rinçage peut aussi être utilisé pour des analyses biochimiques ou moléculaires. Ces systèmes permettent des prélèvements de longue durée. C'est un avantage pour la représentativité de l'analyse mais un inconvénient pour la praticabilité. L'étape de rinçage doit être optimisée pour récupérer le maximum d'éléments fongiques. L'efficacité du rinçage n'est jamais de 100%. Elle constitue en soi une dilution du prélèvement qu'il convient de prendre en compte au moment de l'analyse et qui diminue la sensibilité des méthodes.

La norme NF ISO 16000-16 « Détection et dénombrement des moisissures – Echantillonnage par filtration » publiée en février 2009 précise les exigences d'échantillonnage de longue durée (de 0,5 h à plusieurs heures) des moisissures dans l'air intérieur par filtration. Ce document ne convient pas pour l'échantillonnage individuel. Il aborde la récupération des spores à partir des filtres en gélatine associés à des filtres en polycarbonate, la description technique d'un dispositif de filtration approprié et les essais de validation de la méthode. Le prélèvement d'un échantillon pour détection ultérieure des moisissures par culture après suspension est effectué conformément à la NF ISO 16000-17.

L'efficacité physique d'échantillonnage des filtres en gélatine comme des filtres en polycarbonate est de plus de 95% pour les moisissures dont le diamètre aérodynamique est > 1 µm. Le dispositif d'échantillonnage est prévu pour détecter les particules de la taille des spores de moisissures (>1 µm à 30 µm). L'effet de la dessiccation dépend de la température, de l'humidité relative, de la durée de l'échantillonnage au moment du mesurage ainsi que du type de moisissure. La plupart des spores de moisissures est relativement insensible à la dessiccation. Par conséquent, la méthode de filtration peut être employée sans difficulté.

<u>Prélèvements de surface</u>

L'étude des surfaces permet d'évaluer l'étendue des zones contaminées et d'analyser le biofilm qui se développe en fonction du degré d'humidité, de la composition et de la température des supports. Les prélèvements de surface permettent de compléter les prélèvements d'air en identifiant les micro-organismes présents localement. Toutes les espèces présentes sur les surfaces ne sont pas présentes en forte concentration dans l'air. La réalisation des prélèvements de surface est influencée par l'aspect visuel des moisissures, donc oriente le résultat vers certaines familles comme les dématiées (champignons de couleur sombre).

- Adhésif

Un ruban adhésif est appliqué sur la surface. Les spores et les filaments adhérent sur ce support et sont transférés sur un milieu de culture ou directement comptés et identifiés au microscope.

Par cette technique de prélèvement analysé à la microscopie directe, il est possible de confirmer une croissance suspectée de moisissures sur un matériau par mise en évidence de mycélium. L'observation microscopique ne fournit que des résultats semi-quantitatifs. Le résultat est présenté par types de spores et fragments mycéliens identifiés indiqués dans l'ordre de leur fréquence d'apparition. Les spores sans ornementation ni taille spécifique comme *Penicillium, Aspergillus*, *Paecilomyces* (non différentiables par cette méthode) sont regroupées sous le terme *Aspergillaceae*.

- Boites « contact »

Le milieu nutritif est mis directement en contact avec la surface prélevée, puis s'ensuit une incubation et une identification des espèces présentes. Ce type des prélèvements ne s'applique qu'à des surfaces planes et nécessitent un nettoyage après emploi car dépose de la gélose sur la surface prélevée.

- Ecouvillonnage

La surface est frottée à l'aide d'un écouvillon stérile humidifié ou non. Les spores et filaments recueillis sont ensemencés sur un milieu de culture, soit directement, soit après rinçage. A l'inverse des boites « contact », les écouvillons permettent de prélever toutes les formes de surface, comme par exemple les recoins et les grilles d'aération.

<u>Substrats et prélèvements de poussières</u>

Substrats

Les substrats sont les supports de la croissance fongique dans un environnement, comme par exemple les papiers peints, le bois, le plâtre ou les joints.

Comme pour les surfaces, les prélèvements de substrats peuvent permettre d'identifier les micro-organismes présents localement et de déterminer des sources de contamination. La mise en suspension dans l'air des spores est fonction de plusieurs facteurs dont l'humidité de l'air, les flux, la nature du substrat, l'étendue de la contamination et les espèces présentes.

Les substrats sont prélevés avec du matériel à usage unique ou nettoyé entre deux prélèvements, puis sont rincés et mis en culture au laboratoire. L'identification des espèces fongiques fournit plus d'informations que leur quantification.

La norme NF ISO 16000-21 « Détection et dénombrement des moisissures – Echantillonnage à partir de matériaux » publiée en février 2014 aborde les exigences d'échantillonnage des moisissures à partir de matériaux de construction.

Poussières domestiques

Le prélèvement des poussières par aspiration est réalisé grâce à une chaussette de nylon placée dans le tube d'un aspirateur ou directement dans un sac neuf. La standardisation de l'échantillon est dépendante de l'entraînement du préleveur (aspiration de 1 m² en 2 min, par exemple).

Les prélèvements de poussières fournissent une indication de l'exposition cumulée aux populations microbiennes. Ils sont néanmoins dépendants de la régularité de l'entretien des locaux.

Dans le rapport du CSHPF, seule la méthode de prélèvement de poussières par aspiration était décrite. Aujourd'hui d'autres méthodes comme les capteurs électrostatiques sont utilisées.

Autres méthodes

Les techniques de prélèvement par sédimentation passive sur support nutritif, par impaction sur support adhésif, par impinger et par précipitation électrostatique sont décrites dans le rapport du CSHPF mais ne sont pas reprises ici car elles ne sont pas ou plus utilisées pour l'évaluation de la contamination fongique des environnements intérieurs. La sédimentation sur support nutritif fournit des résultats variables, non représentatifs de la contamination de l'environnement et d'analyse difficile puisque la limite de saturation des supports nutritifs est rapidement atteinte. L'impaction sur support adhésif (par exemple les capteurs de Hirst) nécessite un équipement volumineux développé pour l'utilisation en milieu extérieur. Les systèmes d'impaction par impinger sont des appareils utilisant des flacons de recueil en verre fragiles et délicats à transporter. L'utilisation des capteurs électrostatiques ne s'est pas généralisée, probablement parce ces systèmes n'avaient pas davantage par rapports aux autres systèmes de prélèvement d'air.

3.2.1.2 Nouvelles techniques de prélèvement

L'étude des données bibliographiques indique que les techniques de prélèvement les plus utilisées entre 2006 et aujourd'hui sont les prélèvements d'air par impaction sur milieu en boîte de Petri et par filtration. Les principaux développements présentés ci-dessous concernent les techniques de prélèvement d'air et de poussières.

Prélèvement d'air

Biocollecteur cyclonique

Des appareils (Coriolis® entre autres) permettant le transfert des particules aériennes dans un échantillon liquide ont été récemment développés. L'air est entraîné dans un mouvement de tourbillon pour former un vortex dans un cône rempli de liquide collecteur. Puis les particules sont attirées sur les parois grâce à la force de centrifugation, et séparées de l'air pour se concentrer dans le liquide. La durée de prélèvement va de quelques minutes à plusieurs heures. Pour les moisissures, compte tenu du caractère hydrophobe de certaines spores, il convient d'ajouter un tensioactif pour permettre leur mise en suspension dans le liquide.

De même, certains capteurs individuels initialement développés pour des mesures individuelles d'exposition en milieu professionnel, ont été récemment évalués pour la métrologie des moisissures dans l'habitat. Les prélèvements peuvent être réalisés sur une durée de quelques heures. Ils présentent l'intérêt d'être potentiellement plus représentatifs de l'exposition individuelle que des dispositifs fixes.

- le capteur individuel de poussière (CIP10®). Les particules biologiques sont collectées à travers une fente annulaire dans une coupelle rendue stérile, garnie d'une mousse poreuse en polyuréthane également stérilisée. Le débit de l'appareil – 10 $L.min^{-1}$ - est assuré par la rotation de la coupelle à grande vitesse (près de 7000 tours par minute). L'étage collecteur est précédé d'un sélecteur de la fraction inhalable de l'aérosol (Da_{50} < 100 µm, en conformité avec les normes CEN 481 et ISO TR 7708). Ce capteur est couramment utilisé en France, notamment dans l'industrie du bois en raison de son débit élevé et de sa tête de

prélèvement multidirectionnelle protégée de manière à limiter le prélèvement éventuel de grosses particules projetées (Görner, 2010). Le CIP10-M est une adaptation du CIP10 aux prélèvements d'aérosols biologiques en milieu liquide (Görner, 2006). Le piégeage des micropolluants microbiologiques s'effectue sur un fluide maintenu par effet centrifuge dans une coupelle rotative. Le flux d'air aspiré décrit un mouvement hélicoïdal pour déposer en douceur sur le fluide les cellules vivantes et garantir leur viabilité.

La cassette trois sections fermée de 37 mm de diamètre se compose d'une cassette en polychlorure de vinyle (PVC) (37 mm de diamètre), rendue stérile, contenant une membrane filtrante stérile en polycarbonate (diamètre des pores : 0,8 µm) et reliée à une pompe portative. Les prélèvements sont effectués selon un débit nominal de 2 $L.min^{-1}$, cassette fermée (ouverture 4,1 mm), afin de recueillir la fraction inhalable de l'aérosol. Ce dispositif de prélèvement est notamment utilisé en hygiène professionnelle (norme NF X 43-257). C'est l'échantillonneur le plus couramment utilisé en dépit de sa faible efficacité d'échantillonnage des particules supérieures à 30 µm (Kenny, 1997 ; Görner, 2010). L'efficacité physique de ce dispositif, évaluée dans un tunnel expérimental dans lequel est généré un aérosol de particules de 7 à 100 µm à des vitesses allant de 0,5 à 4 $m.s^{-1}$, s'est révélée être en dessous de la courbe de la fraction d'aérosol inhalable (Kenny, 1997).

- L'échantillonneur individuel mis au point par l'Institut of Occupational Medecine (IOM®) est utilisé pour échantillonner des aérosols correspondant à la fraction inhalable (Görner, 2010). Il est notamment proposé en hygiène professionnelle par des instances nationales en Australie et aux Etats-Unis[7] pour l'échantillonnage des particules de la fraction inhalable. Les particules sont aspirées à un débit de 2 $L.min^{-1}$ à travers un orifice de 15 mm. Les particules passent l'orifice, sont capturées dans une cassette en plastique stérilisée et sont collectées sur un filtre stérile de 25 mm en polycarbonate (diamètre des pores : 0,8 µm). Sa capacité à remplir les critères d'échantillonnage de la fraction inhalable dans l'air en mouvement a été vérifiée (Witschger, 2004 ; Kennedy, 2001 ; Kenny, 1997) pour des particules de diamètres inférieurs à 100 µm et quand le capteur n'est pas dirigé directement face au vent (Li, 2000).

Récemment, Görner *et al.* (2010) ont testé l'efficacité de ces trois échantillonneurs dans un tunnel vertical à air calme (conditions plus proches de celles rencontrées dans les environnements intérieurs). Les résultats obtenus montraient que l'IOM suivait correctement la courbe d'inhalabilité d'Aitken (obtenue avec un débit de 20 $L.min^{-1}$) pour les particules de diamètre aérodynamique (Da_{50}) inférieur à 70 µm. L'efficacité du CIP10-I v1 était moins bonne pour les particules de Da_{50} supérieur à 20 µm. Comme dans l'air en mouvement, la cassette fermée présentait l'efficacité la plus faible (Görner, 2010).

Ces deux derniers dispositifs font partie des appareils de prélèvements par filtration décrits dans le chapitre 3.2.1.1 et en ont les avantages et inconvénients. Le biocollecteur cyclonique et le CIP10-M ont l'avantage de permettre un prélèvement directement dans un liquide et donc d'éviter la perte d'une partie des éléments fongiques lors de l'étape de rinçage.

Prélèvement de poussières

Les prélèvements de poussières sédimentées sont de plus en plus utilisés pour l'évaluation de la contamination de l'environnement intérieur du fait de la simplicité du prélèvement. Les poussières contiennent les spores et les particules d'origine fongique qui étaient présentes dans l'air et qui se sont déposées par sédimentation donnant ainsi une image de la contamination fongique sur une durée plus longue. Les poussières sont soit aspirées, soit recueillies par sédimentation.

- Aspiration : la poussière sédimentée est collectée à l'aide d'un aspirateur muni d'un sac neuf ou d'un tube collecteur en nylon. L'aspiration est réalisée sur une surface et selon un

[7] ACGIH - American Conference of Governmental Industrial Hygienists et NIOSH - National Institute for Occupational Safety and Health

temps définis, par exemple 2 min.m^{-2} dans l'étude *Cincinnati Childhood Allergy and Air Pollution Study CCAPS* (Cho, 2006a). Au laboratoire, la poussière est mélangée à une solution de rinçage. Le mélange est filtré avant analyses ou ensemmencé directement après dilutions. Les principaux inconvénients sont que les quantités collectées sont faibles et dépendantes du support et de l'entretien quotidien de l'environnement. Ainsi l'aspiration des moquettes ou tapis non entretenus permet de recueillir correctement les spores, contrairement aux sols lisses fréquemment lessivés.

- Piège ou capteur électrostatique : Plusieurs laboratoires utilisent pour les prélèvements de poussières dans l'habitat des capteurs électrostatiques : un carré de tissu aux propriétés électrostatiques, fixé à un support, est posé pendant plusieurs semaines dans un logement (Noss, 2008). Au laboratoire le tissu est rincé. L'utilisation d'un malaxeur automatisé permet d'augmenter l'efficacité du rinçage. Les principaux inconvénients résident dans cette étape de rinçage qu'il convient d'optimiser pour récupérer le maximum d'éléments fongiques et dans le manque d'études visant à évaluer la relation entre la contamination de l'air et les éléments recueillis sur ces capteurs.

Le liquide de rinçage de la poussière aspirée ou du capteur électrostatique permet une large gamme d'analyses par culture, biologie moléculaire ou analyses de types biochimiques.

Conclusion

Les développements récents concernent essentiellement les prélèvements d'air et les prélèvements de poussières sédimentées. Ces développements techniques ont pour objectif d'obtenir une meilleure représentativité de la contamination réelle des environnements et de l'exposition des personnes, et de permettre une batterie d'analyses allant de la culture aux dosages biochimiques en passant par les nouvelles méthodes de biologie moléculaire.

3.2.2 Importance de la stratégie d'échantillonnage

Depuis de nombreuses années, les études sur l'évaluation des moisissures en milieu intérieur se succèdent et les techniques évoluent. Cependant il n'existe pas de protocole unique pour procéder à l'échantillonnage fongique. Pour l'évaluation d'une contamination fongique, le type et le nombre de prélèvements, de même que les méthodes d'analyse utilisées, sont déterminés par l'objectif de l'investigation. Une inspection visuelle sur le terrain avant les prélèvements est une condition indispensable pour la détection et l'évaluation des sources de moisissures dans les environnements intérieurs. Les prélèvements (matériaux, air, poussières domestiques) et analyses de moisissures viendront appuyer les conclusions et les observations visuelles et confirmer une suspicion de développement de moisissures. Les ajustements stratégiques et techniques temps/débit/dilution sont difficiles à généraliser et nécessitent une connaissance préalable, en terme de concentration et d'espèces présentes, de l'environnement à investiguer. Avant la réalisation d'une campagne de prélèvement, il est donc important de définir une stratégie d'échantillonnage qui peut s'appuyer sur quatre questions : pourquoi ? où ? quand ? comment ?

- Pourquoi ? L'objectif de la campagne de prélèvement doit être clairement défini. Par exemple, il peut s'agir de caractériser un environnement intérieur lors d'une enquête d'insalubrité, de rechercher un germe particulier en cas d'infection fongique, de mesurer une exposition dans le cadre d'une étude épidémiologique, de faire un lien entre un problème de santé et une exposition domestique (pneumopathie d'hypersensibilité, aspergillose…). Dans ces différents cas la stratégie de prélèvement et d'analyse sera différente. La norme NF EN ISO 16000-19 « Stratégie d'échantillonnage des moisissures», publiée en novembre 2014, a pour objectif de proposer une stratégie d'échantillonnage des sources de moisissures dans les environnements intérieurs. Le contenu de cette norme ainsi que les recommandations en fonction des objectifs sont résumés en Annexe 8.1.
- Où ? Pour les prélèvements d'air, il faut définir par exemple la hauteur de la tête de prélèvement de l'échantillonneur (la norme NF ISO 16000-19 conseille une hauteur

comprise entre 0,75 et 1,5 m au-dessus du sol, ce qui correspond à une hauteur moyenne pour mesurer ce qu'un adulte respire en position assise ou debout). Les pièces où réaliser le prélèvement doivent également être précisées : dans les pièces moisies et/ou dans les pièces adjacentes après une opération de décontamination fongique pour évaluer un éventuel transfert d'éléments fongiques dans le cas où le confinement du chantier n'a pas été correctement réalisé (avant réouverture d'une crèche par exemple). La réalisation d'un prélèvement extérieur de référence peut être utile pour apprécier qualitativement et quantitativement la flore fongique présente dans l'air ambiant au moment de la campagne de prélèvement.

Dans le cas des prélèvements de surface, il est important d'être représentatif de l'aspect des contaminations présentes (texture, couleur…).

- Quand ? La réalisation de prélèvement est déconseillée en été car la flore fongique extérieure est très élevée ce qui crée une interférence liée à la pénétration dans les environnements intérieurs des éléments fongiques par la ventilation, les vêtements, les semelles de chaussures… Pour les prélèvements d'air qui sont de courte durée (image de l'aérobiocontamination fongique à un moment donné) il est conseillé de fermer les ouvrants au moins 8 heures avant de réaliser le prélèvement afin de limiter l'interférence liée à l'air extérieur (NF EN ISO 16000-19).
- Comment ? Le choix de la technique de prélèvement doit être compatible avec la méthode d'analyse (en milieu solide ou liquide pour les prélèvements d'air par exemple). Le temps de prélèvement doit être adapté à l'objectif. Dans le cas d'une mesure d'exposition, les prélèvements doivent être de longue durée : capteurs individuels (mesure aérienne), prélèvement par capteurs électrostatiques (mesure des poussières sédimentées). Les prélèvements de surface ou de matériaux sont intéressants pour caractériser la source de contamination. Enfin, en cas de suspicion de moisissures cachées, des prélèvements d'air sont préconisés. Si la contamination est confinée dans un espace clos, la mesure de traceurs chimiques gazeux (COV_m) peut s'avérer utile mais ne permettra pas l'identification ni la quantification des moisissures présentes.

Les modes de prélèvements utilisés dans la littérature depuis 2006 permettent de constater une prédominance des prélèvements d'air par impaction (environ 30% des études avec prélèvements) ou par filtration (environ 13% des études). Le choix entre ces deux modes de prélèvement est fonction du matériel disponible mais aussi du niveau de contamination de l'environnement et des méthodes d'analyse. Lorsque l'impaction sur milieu gélosé est utilisé, le volume prélevé est adapté à la quantité de spores dans l'air afin d'être en dessous du niveau de saturation du milieu de culture. Le chiffre de 300 colonies par milieu est considéré comme la limite de lecture (NF EN 13098), à nuancer en fonction des espèces présentes. Lorsqu'un prélèvement d'au moins 50L est recommandé pour être représentatif de la contamination globale d'une pièce, les prélèvements d'air par impaction sont plutôt adaptés aux concentrations inférieures à 6000 UFC.m^{-3}, ce qui correspond à des niveaux élevés mesurés dans les logements, les écoles, les crèches ou les bureaux par exemple.

Les environnements professionnels où sont manipulés des substrats sources de contamination fongique, comme par exemple le milieu agricole, présentent des concentrations en spores dans l'air souvent supérieures à 6000 UFC.m^{-3}. Dans ces environnements, le prélèvement par filtration est plus adapté car il permet une dilution avant analyse. Les prélèvements par filtration peuvent aussi être utilisés dans l'habitat ou les bureaux, en allongeant les temps de prélèvements pour prendre en compte l'effet de la dilution. Du fait de cette possibilité de dilution, les systèmes de prélèvement par filtration peuvent être utilisés pour un prélèvement de plusieurs heures, voire plusieurs jours. Ainsi ils peuvent être portés à la ceinture et être utilisés comme capteurs individuels. Cette utilisation est privilégiée pour l'évaluation de l'exposition professionnelle, pour connaitre l'exposition d'une personne qui va circuler entre différents locaux et différentes tâches. L'objectif n'est plus de connaître et comprendre la contamination fongique d'un local mais d'évaluer l'exposition d'une personne sur un temps donné.

La concentration en moisissures dans le bâti varie dans le temps et dans l'espace. Les causes de variations les plus décrites sont celles liées à la saison, aux activités humaines ou animales et à la présence d'une source d'humidité ponctuelle ou permanente dans le bâti. Une étude publiée en 2001 par une équipe finlandaise (Hyvärinen, 2001) conclut qu'un échantillonnage répété de l'air pendant 11 jours consécutifs est nécessaire pour mesurer la contamination d'un logement. En s'appuyant sur les résultats de leur étude et sur des recommandations nationales, les auteurs proposent la conduite suivante pour évaluer la contamination fongique d'un logement (Figure 5) :

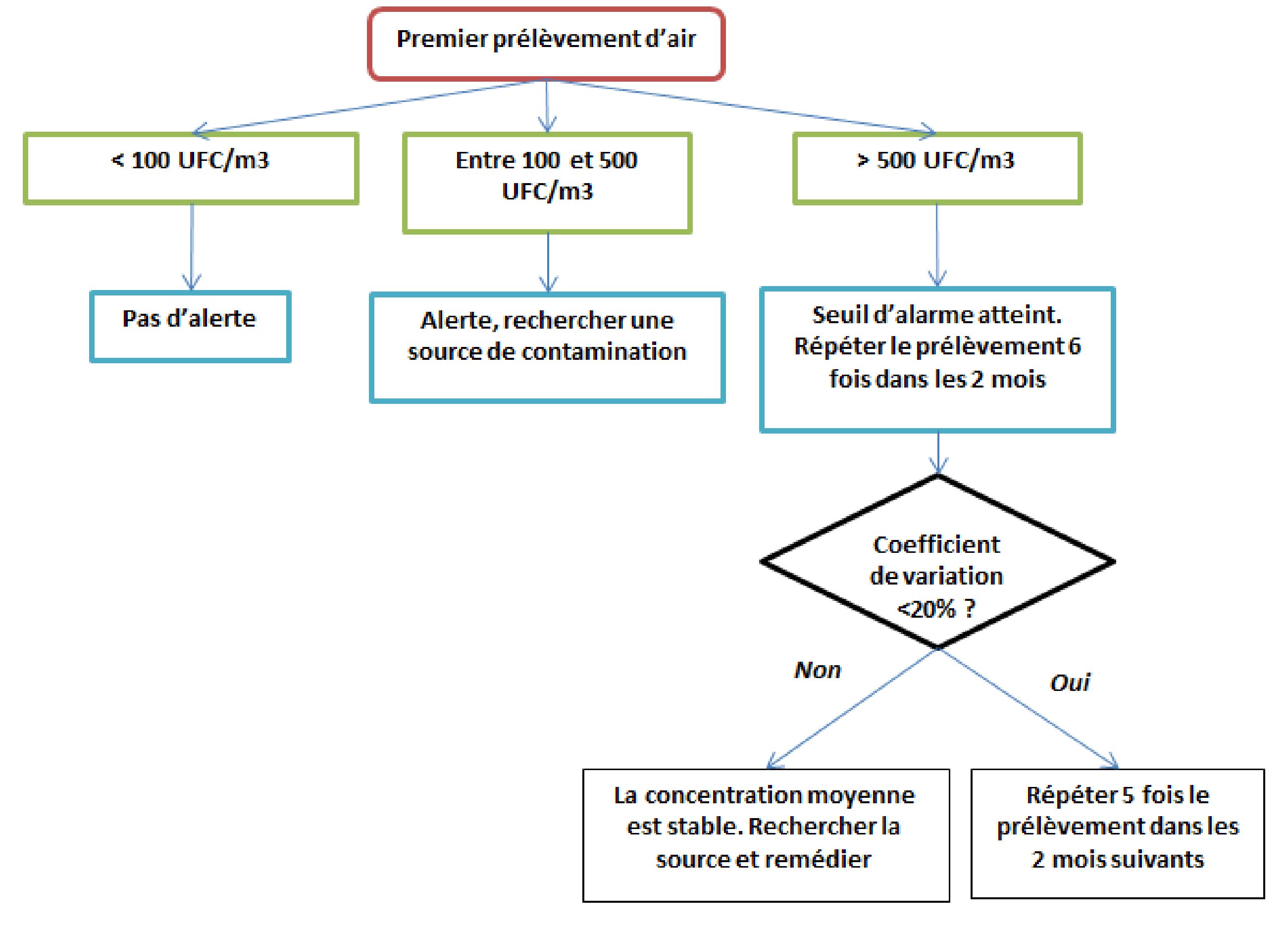


Figure 5 : Conduite à suivre pour l'évaluation de la contamination fongique d'un logement à partir de prélèvement d'air

Même si la variabilité des prélèvements d'air est réelle et connue, l'analyse de la bibliographie indique que les prélèvements d'air sont rarement répétés dans le temps et que cette variabilité n'est donc le plus souvent pas prise en compte. La stratégie est plutôt de multiplier le nombre de points de prélèvements réalisés la même journée. Dans la majorité des études, l'air de plusieurs pièces est prélevé. Le choix de la ou des pièces où l'air est prélevé s'oriente vers les pièces où l'on passe le plus de temps (chambre, salon…), ou celles qui sont les plus humides et qui peuvent représenter un réservoir de moisissures (salle de bain, cave…), avec souvent une association salle de bain et chambre.

Pour pallier les limites des prélèvements d'air qui ne donnent que des instantanés, l'analyse de la poussière suscite un intérêt croissant. Ce type de prélèvement est utilisé dans environ 20% des articles publiés depuis 2006. Dans les trois quart des cas, la poussière est aspirée de façon standardisée. Le système en émergence est le prélèvement de poussières sur des capteurs électrostatiques, qui permet de s'affranchir de la variabilité liée à la nature des surfaces aspirées et à l'entretien des locaux.

3.2.3 Techniques d'analyse

3.2.3.1 Identification microscopique à partir des cultures

Les techniques basées sur la culture restent d'actualité car elles font référence pour l'identification. La fraction cultivable des micro-organismes de l'air est faible (0,01 à 10%). Les cultures sont réalisées sur des milieux nutritifs placés à différentes températures d'incubation. Chaque type de milieu, chaque température et chaque temps d'incubation répondent à des besoins spécifiques d'espèces. Ainsi l'utilisation de plusieurs milieux placés à différentes températures et analysés à différents temps permet d'augmenter la gamme des moisissures détectées.

Le dénombrement et l'identification reposent sur un examen macroscopique des milieux de culture et un examen microscopique des colonies fongiques. Cette étape requière du temps et un niveau d'expertise important, en particulier pour une identification à l'espèce.

L'identification morphologique est basée sur :

- La morphologie : aspect visuel du développement in situ et en culture, observation au microscope du mode de formation des spores (appelées conidies chez les Deuteromycota), de leur type de groupement (en chaînes, en têtes…), de leur forme, de leur couleur.
- L'observation microscopique est effectuée sur des prélèvements directs (morceaux de ruban adhésif) ou sur des cultures de souches isolées.
- La production de métabolites.

La norme NF ISO 16000-17 « Détection et dénombrement des moisissures – Méthode par culture » publiée en février 2009 propose une méthode de détection et de dénombrement des moisissures par culture, après échantillonnage par impaction (conformément à la NF ISO 16000-18) ou par filtration (conformément à la NF ISO 16000-16). Cette méthode convient également à la culture des moisissures à partir d'un prélèvement de poussières, d'un échantillonnage de matériaux ou d'un prélèvement de surface (NF ISO 16000-21).

Les boîtes de gélose (gélose DG18 et gélose à l'extrait de malt ou gélose à la pomme de terre) obtenues par impaction sont directement incubées à l'endroit pendant 7 jours à 25 ± 3 °C. Pour des applications spécifiques, il est possible d'incuber les boîtes à 36 ± 2 °C (par exemple, pour *Aspergillus* spp., autres thermotolérants) ou à 45 ± 2 °C (*Aspergillus fumigatus*)). Pour le DG18, l'incubation peut être prolongée à 10 jours, en particulier si une identification est attendue. A 36 °C ou 45 °C, les moisissures thermotolérantes sont dénombrées au bout de 1 à 3 jours car elles se développent plus rapidement.

Les filtres issus du prélèvement par filtration sont remis en suspension dans une solution saline (0,9 % de NaCl) avec 0,01 % de polysorbate 80. Des dilutions décimales de la suspension sont préparées et les aliquotes étalées sur au moins deux boîtes en parallèle par dilution sur les milieux de culture cités précédemment. Les boîtes de gélose sont ensuite incubées.

Les milieux à l'extrait de malt ou dextrosé à la pomme de terre permettent la détection d'un large spectre de moisissures. Le milieu DG18 (dichloran-glycérol 18%) convient également à la détection de moisissures xérophiles. Le glycérol réduit l'activité de l'eau et le dichloran inhibe la prolifération des colonies des moisissures à croissance rapide, sans empêcher la sporulation. Les colonies à croissance lente peuvent en conséquence se développer sans être envahies par celles à croissance rapide (limitation de la compétition mais maintien global de la biodiversité des échantillons). Le milieu DG18 est donc plus propice au dénombrement des moisissures par contre certains genres fongiques ne peuvent pas s'y développer car la disponibilité en eau est trop faible. C'est pour cela qu'il est utile d'utiliser en parallèle le milieu DG18 et le milieu à l'extrait de malt ou de pomme de terre.

L'identification des moisissures cultivées sur les boîtes de gélose est indispensable pour la plupart des problèmes liés à une croissance fongique dans les environnements intérieurs, notamment dans le cadre d'études liées aux problèmes de santé.

Le nombre de colonies optimal pour l'identification et la quantification du genre ou de l'espèce avec une boîte de culture standard d'environ 90 mm de diamètre est de 20 à 40 colonies. Pour les résultats quantitatifs, il convient qu'au moins 10 colonies du genre ou de l'espèce soient présentes sur la boîte de gélose et que le nombre total de colonies soit au maximum de 100. Le calcul de la concentration en moisissures dans l'air intérieur repose principalement sur le nombre de colonies cultivées sur boîtes de gélose DG18. Seules les espèces de moisissures qui ne se développent pas ou qui se développent sporadiquement sur géloses DG18 (par exemple, Chaetomium, Stachybotrys) sont dénombrées sur gélose à l'extrait de malt ou gélose dextrosée à la pomme de terre. Les résultats de la gélose DG18 et de la gélose à l'extrait de malt ou gélose dextrosée à la pomme de terre ne sont pas compilés mais le calcul repose sur le nombre de colonies sur la gélose ayant connu la plus forte croissance de l'espèce ou du genre en question. Les concentrations sont calculées pour chaque espèces ou genre identifiés. Les espèces de moisissures non identifiées sont regroupées sous la dénomination « autres espèces ». Il convient toutefois d'anticiper l'identification des espèces dominantes au moins au niveau du genre. Les mycélia stériles sont dénombrés séparément. La concentration totale en moisissures est calculée en effectuant la somme des concentrations des espèces et des genres, y compris les colonies non identifiées et les colonies stériles.

La norme NF ISO 16000 20 « Détection et dénombrement des moisissures – Détermination du nombre total de spores » publiée en mars 2015 spécifie les exigences d'échantillonnage des moisissures dans l'air intérieur et comptage des spores fongiques au microscope. La concentration totale en spores (spores cultivables et non cultivables) est déterminée. Aucune culture n'est effectuée.

La principale limite est liée à l'exhaustivité des espèces mises en évidence. En effet, seule la part cultivable de la microflore est visible par culture. Il existe des microorganismes difficilement ou non cultivables.

La partie C de l'Annexe 8.1 valorise le recueil des données de la littérature relative à la mise en œuvre de la mesure par impaction en milieu solide et analyse par culture sur le terrain.

3.2.3.2 Nouvelles techniques d'identification après culture

Les deux principales nouvelles techniques mises en exergue par l'analyse de la bibliographie depuis 2006 sont la spectrométrie de masse MALDI-TOF et les méthodes de biologie moléculaire. Ces méthodes après culture, permettent l'identification des micro-organismes qui se développent sur les milieux de culture donc sous-estiment la diversité.

Spectrométrie de masse MALDI-TOF

Même si le principe de la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF est connue depuis de nombreuses années, ce n'est que récemment qu'il a été appliqué à large échelle à l'identification des bactéries et des champignons. Après une étape initiale de lyse ou d'extraction de protéines à partir d'une colonie, cette technique quantifie avec précision et en quelques secondes la masse et l'abondance des protéines comprises entre 2000 et 150000 Dalton (Da) présentes dans un échantillon. En comparant le spectre obtenu avec ceux établis avec des souches de références et stockés dans des bases de données, la nature du microorganisme testé est déduite. Plusieurs systèmes commerciaux existent avec des méthodologies, des critères de validation et des banques de données différentes (Vermeulen, 2012). Pour les moisissures, il est important de prendre en compte les conditions de culture (temps de pousse, milieu de culture utilisé) pour réaliser les bases de données sous peine de non-identification ou d'erreur d'identification du pathogène fongique (Alanio, 2011).

Le MALDI-TOF est en plein essor dans les laboratoires de microbiologie car c'est une technique simple à mettre en œuvre, l'obtention des résultats est rapide, le coût d'utilisation est faible après acquisition du matériel, l'identification est fiable pour les bactéries. La limite réside dans la réalisation et la fiabilité des bases de données, donc de l'interprétation des résultats. Malgré ces

quelques limites, le MALDI-TOF s'impose comme la méthode de choix en routine pour le diagnostic.

Identification moléculaire par séquençage - Barcoding

L'identification morphologique des moisissures étant complexe et très dépendants des conditions de cultures, la taxonomie des champignons évolue vers l'utilisation de données moléculaires. Certains loci présentant un polymorphisme suffisant pour différentier les genres et les espèces ont été évalués. La communauté internationale s'est mise d'accord pour l'utilisation de loci de référence représentés essentiellement par les loci des ARN ribosomaux (Internal Transcript Spacer, 28S, Inter Genic Spacer) pour l'identification des moisissures (Schoch, 2012 ; Irinyi, 2015). En fonction des genres, le polymorphisme observé dans les ARN ribosomaux peut être insuffisant et d'autres loci sont alors proposés pour l'identification au niveau de l'espèce (β-tubuline, calmoduline, facteur l'élongation alpha 1, pour les plus courants), en particulier pour différencier les *Aspergillus* des *Penicillium*. Une fois les séquences obtenues, une expertise en bio-informatique est nécessaire pour comparer les séquences nucléotidiques obtenues à celles présentes dans les bases de données. Il est à souligner que les banques publiques actuelles (GenBank) comportent environ 40% d'identifications erronées pour les moisissures et que des bases fiables car associées à une identification morphologique sont à privilégier. Il est donc conseillé de comparer les données de séquence à des bases fiables (par exemple CBS, Pasteur[8]) associant des identifications polyphasiques effectuées par des centres dédiés aux moisissures.

Conclusion :

Les techniques d'analyse par culture utilisées depuis plusieurs décennies le sont encore actuellement car il existe de nombreuses données dans la littérature qui permettent une comparaison des résultats et ne nécessitent pas l'achat de matériel onéreux. L'identification peut aussi être obtenue par séquençage de l'ADN ou par l'étude des profils protéiques (Maldi-tof) des souches fongiques isolées sur les milieux. La disponibilité des souches peut également avoir un intérêt pour l'étude de leur résistance aux antifongiques.

L'inconvénient majeur de l'analyse par culture est que seule la flore revivifiable est mise en évidence et la nécessité d'un niveau de compétence élevé du personnel. Pour une identification la plus précise possible, il faut multiplier les milieux et les conditions d'incubation. Enfin, la compétition des espèces présentes sur la boîte de Petri sous-estime certaines espèces. Malgré ces inconvénients, l'analyse par culture reste actuellement une méthode de référence.

3.2.3.3 Nouvelles techniques de biologie moléculaire sur prélèvements

Les techniques de biologie moléculaire se déroulent en trois phases communes à toutes les applications à savoir extraction des acides nucléiques, amplification, et analyse des produits amplifiés. Les particularités pour les moisissures apparaissent pour les étapes d'extraction, la paroi des spores fongiques devant être cassée pour libérer les acides nucléiques. Cette étape cruciale est difficile à homogénéiser pour toutes les espèces. Une autre difficulté est le caractère souvent minoritaire de l'ADN fongique dans des milieux complexes ou l'ADN d'autres eucaryotes (plantes, acariens) peut être largement prédominant, nécessitant l'optimisation des tests d'amplification et l'évaluation des rendements d'amplification dans chaque échantillon testé.

Polymerase chain reaction quantitative en temps réel (qPCR)

Les techniques de biologie moléculaire reposent essentiellement sur la PCR (Polymerase Chain Reaction) qui est au départ simplement une méthode d'amplification des acides nucléiques. L'obtention de grandes quantités d'acides nucléiques permet ensuite l'utilisation de nombreuses méthodes d'analyses. La PCR repose sur le dessin de deux amorces qui s'hybrident de part et d'autre du locus que l'on veut étudier et l'emploi d'une enzyme (ADN polymérase) qui fonctionne à

[8] http://fungibank.pasteur.fr ; http://www.mycobank.org/defaultinfo.aspx?Page=Home

haute température, ce qui permet les différentes étapes de dénaturation, hybridation et élongation dans un même tube. Une fois le produit amplifié, l'objectif est de le caractériser et de le quantifier.

Les premières techniques de PCR dites en point final ne permettaient pas la quantification du produit amplifié. Actuellement, la seule méthode qui présente des caractéristiques compatibles avec un emploi consensuel est la PCR quantitative en temps réel (qPCR). Son atout principal est d'être réalisé en format clos, sans ouverture des tubes pour analyser les produits amplifiés. Cela diminue drastiquement le risque de contamination de l'environnement du laboratoire avec des produits amplifiés (et donc le risque de faux positifs). Son deuxième avantage est de quantifier le produit amplifié, étape indispensable pour la recherche d'un seuil (Alanio & Bretagne, 2014).

La validation d'un test qPCR est dépendante de nombreux paramètres qui sont maintenant bien établis (Bustin, 2009). Ces critères dits MIQE (pour minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments) sont nécessaires pour que le test soit reproductible entre différents laboratoires. Ils contiennent en particulier la nécessité d'établir la limite de détection et le rendement de la réaction d'amplification. Quand l'objectif de la qPCR est le diagnostic, il est nécessaire de caractériser le produit amplifié à l'aide d'une sonde spécifique. Il est également nécessaire d'utiliser un contrôle interne de la réaction, dont le but est de s'assurer que dans chaque échantillon testé le rendement de la réaction est similaire à celui qui a été expérimentalement validé. Ce contrôle interne doit être constitué d'ADN complètement exogène à ce que l'on veut amplifier mais aussi à tout ADN qui pourrait se retrouver dans le prélèvement. La validation de la qPCR ne préjuge pas de la qualité de l'étape d'extraction des acides nucléiques, étape survenant avant et indépendamment de la qPCR. Cette étape est particulièrement cruciale quand on étudie les moisissures dont la paroi est difficile à casser ce qui nécessite des méthodes stringentes d'extraction. De plus, la constitution de la paroi est variable selon les moisissures, ce qui peut entraîner des variations suivant les espèces. Cette variabilité au niveau de l'extraction se retrouve ensuite dans la quantification, indépendamment de la qPCR elle-même. Il n'existe pour l'instant pas de témoin satisfaisant d'extraction d'acides nucléiques fongiques quelle que soit l'espèce fongique considérée.

Les stratégies pour détecter les moisissures ont fait appel à des tests dits panfongiques ou espèce (ou genre) spécifique. Les tests panfongiques utilisent des amorces complémentaires de régions géniques conservées pendant l'évolution des génomes pour amplifier le plus possible d'espèces connues. Il est cependant illusoire d'amplifier avec le même rendement toutes les espèces présentes dans un échantillon complexe. Ainsi, une espèce minoritaire mais correctement amplifiée biaisera complètement la quantification à son profit, alors que des espèces fréquentes dans l'échantillon ne seront pas correctement amplifiées. Ainsi, les amorces publiées dites panfongiques amplifient de préférence les moisissures ascomycètes aux dépens des moisissures basidiomycètes (Bellemain, 2010). De plus, les amorces panfongiques comportent le risque d'amplifier également l'ADN des organismes proches des champignons, à savoir les plantes et les animaux, qui sont tous des eucaryotes partageant de nombreuses séquences en commun, en particulier dans les ADN codant pour les ARN ribosomaux (Martin & Rygiewicz, 2005). La réaction d'amplification sera alors déviée vers l'amplification de ces autres eucaryotes, diminuant d'autant la sensibilité pour la détection des moisissures.

La façon la plus simple de développer un test qPCR reproductible est donc de se focaliser sur une espèce ou un groupe d'espèces suffisamment proches pour que des amorces spécifiques puissent être choisies. Il est alors possible de valider le test selon les recommandations MIQE et de s'assurer par la suite que l'amplification dans chaque échantillon testé se déroule comme souhaité. De très nombreux tests ont été publiés pour amplifier des espèces d'intérêt clinique ou de l'environnement (McDewitt, 2004 ; Scherer, 2014 ; Bellanger, 2010 ; Zeng, 2006 ; Pietarinen, 2008). Ainsi, il a été montré que la quantification de l'espèce *Cladosporium sphaerospermum* est associée aux habitations ayant subi un dégât des eaux dans l'Est de la France (Bellanger, 2009).

Mold Specific Quantitative PCR (MSQPCR Polymerase chain reaction) et Environmental Relative Moldiness Index (ERMI)

La démarche qui consiste à se focaliser sur une espèce présente l'inconvénient évident de ne pas rendre compte de la multiplicité des espèces présentes dans l'environnement. C'est pour cette raison que certains auteurs proposent de multiplier des tests spécifiques pour plusieurs espèces. Ainsi, des auteurs américains proposent d'associer l'amplification de 36 espèces différentes et ensuite non pas de rendre les résultats pour chaque espèce, mais de les intégrer dans un indice (ERMI pour Environmental Relative Moldiness Index). Cet index intègre l'analyse par qPCR de 26 espèces (Groupe 1) associées aux dégâts des eaux et 10 (Groupe 2) retrouvées dans tous les domiciles et représentant la flore extérieure (Vesper, 2011a). L'index est calculé en faisant la somme des logs des concentrations des moisissures du groupe 1 (S1) moins la somme des logs des concentrations des moisissures du groupe 2 (S2) (Vesper, 2007). De récentes publications pondèrent la stratégie proposée en recentrant les tests qPCR sur les moisissures pertinentes pour le pays considéré. De plus, cela permet de diminuer les coûts en réduisant le nombre de tests.

Méthodes de séquençage haut débit ou NGS (Next Generation Sequencing)

La qPCR étant limitée sur le nombre d'espèces détectables, les nouvelles méthodes de séquençage haut débit ou NGS (pour Next Generation Sequencing) ont le potentiel de surmonter cet obstacle en évitant de cibler des espèces *a priori*. Cette approche, dénommée métagénomique, permet l'analyse de la composition et de la dynamique des communautés microbiennes.

Deux stratégies sont possibles : l'amplification de marqueurs phylogénétiques conservés comme les gènes 18S ou les régions ITS[7] des ARN ribosomaux (Schoch, 2012) avec analyse des amplicons obtenus ; soit le séquençage de tout le contenu génétique d'un échantillon complexe. Les deux méthodes nécessitent une étape d'extraction, l'obtention de produits amplifiés, le séquençage proprement dit, le traitement informatique avec l'incorporation de contrôle de qualité et la comparaison avec des banques de données (Hiergeist, 2015). Ces différentes étapes sont difficilement réalisables par les laboratoires de routine actuels.

La méthode d'analyse des amplicons est plus abordable car moins chère et demande moins de traitement informatique. Elle est actuellement de plus en plus utilisée en bactériologie. Les OTU (*operational taxonomic unit*) obtenus peuvent correspondre à des espèces connues cultivables ou non, mais aussi à des éléments non viables, comme toute analyse d'ADN. L'expression des résultats dépend à la fois des critères utilisés pour le regroupement des séquences, de la qualité de la base de données utilisée (nombre de séquences, qualité de l'annotation, nombre et type d'espèces représentées, qui doivent être actualisées en fonction de l'évolution des connaissances), ainsi que des critères retenus pour valider l'attribution taxonomique (notamment le pourcentage d'identité minimum). La fiabilité de l'identification varie en fonction des espèces. Certaines espèces ne peuvent être différenciées par leurs séquences[9], et la nomenclature double pour la forme sexuée et asexuée peut entraîner des difficultés d'attribution taxonomique car deux noms seront assignés à une même séquence. Ainsi, Yamamoto *et al.* (2014) rapportent une identification correcte au genre dans plus de 99,8% des cas pour *Cladosporium cladosporoides*, *Alternaria alternata* et *Epicoccum nigrum*, mais seulement 11,4% pour *Penicillium chrysogenum* (indifférenciable de sa forme sexuée Eupenicillium) et 44,9% pour *Aspergillus fumigatus* (forme sexuée Neosartorya) (Yamamoto, 2014). Enfin, la diversité intra-échantillon (diversité « α ») ou inter-échantillon (diversité « β ») peut également être mesurée. Cependant, la principale limite de cette stratégie est qu'elle se base sur l'hypothèse que les amorces dites panfongiques amplifient toutes les espèces avec le même rendement, ce qui n'est pas vérifié. Ainsi les résultats peuvent beaucoup varier selon les amorces utilisées (Bokulich & Mills, 2013). Il n'est pas possible de

[9] ITS : Séquence transcrite interne

proposer actuellement une méthode consensuelle adaptée à la thématique des moisissures intradomiciliaires.

Pour circonvenir les biais possibles en choisissant des amorces *a priori*, certains auteurs explorent l'intérêt du WGS (*Whole Genome Sequencing*) en analysant tous les fragments d'ADN amplifiés d'une façon aléatoire dans un échantillon. Si la question est ciblée sur les moisissures, cela oblige à retirer de l'analyse tous les OTU des autres organismes (bactéries, plantes, animaux …). Le coût d'une telle stratégie est pour l'instant prohibitif mais seule cette stratégie permettra d'analyser les prélèvements sans *a priori* et avec le minimum de biais possible. A noter que pour les bactéries ces méthodes de séquençage à haut débit sont actuellement comparées aux méthodes dites de culturomics (Hiergeist, 2015). Ces dernières multiplient les milieux et les conditions de cultures pour obtenir le maximum de colonies qui sont analysées une par une. Les résultats sont loin d'être concordants avec ceux des techniques NGS (Lagier, 2012). Si le NGS peut amplifier des ADN de microorganismes morts ou non cultivables, ces méthodes devraient amplifier l'ADN de toutes les espèces obtenues par culturomics, ce qui n'est pas le cas. Ceci souligne les critiques à émettre sur les résultats des méthodes de NGS qui manquent pour l'instant cruellement de standardisation et de reproductibilité.

L'Annexe 8.2 valorise le recueil des données de la littérature relative à la mise en œuvre sur le terrain de la mesure NGS.

Métagénomique par clonage

Le clonage a été appliqué à l'analyse de la composition et de la dynamique des communautés fongiques environnementales par quelques équipes : une aux Etats-Unis (Rittenour *et al.* , 2014) et 2 en Finlande (Pitkäranta, 2008 ; 2011). Ces approches sont, comme les méthodes de séquençage haut débit, basées sur une première étape d'amplification d'un marqueur conservé (généralement les régions ITS). Cette étape est suivie d'une insertion des amplicons dans des plasmides, eux-mêmes introduits dans des bactéries qui sont mises en culture sur milieu sélectif. Chaque colonie correspond à un clone qui pourra ensuite être séquencé, puis identifié par comparaison aux séquences des bases de données.

Bien que la mise en œuvre de cette méthode soit plus abordable que celle des techniques de séquençage haut débit, la nécessité d'une analyse individuelle de chaque clone la rend fastidieuse. Par ailleurs, elle présente des performances moindres comparativement au séquençage haut débit, avec un nombre de séquences obtenues et d'OTU (correspondant aux espèces identifiées) beaucoup plus faible (en moyenne moins de 200 séquences/échantillon et de 305 à 456 espèces identifiées) (Rittenour, 2014, Pitkäranta, 2008 ; 2011).

Conclusion

La PCR qui s'est développée depuis plus de 25 ans, méthode révolutionnaire pour l'étude des acides nucléiques, ne cesse d'être améliorée.

Les méthodes « en temps réel » ouvrent la possibilité d'une quantification de l'ADN fongique dans les environnements intérieurs. Il est nécessaire de cibler les espèces recherchées en posant une hypothèse *a priori* sur la flore fongique attendue, ce qui est positif car on sait que le nombre d'espèces potentiellement allergènes ou asthmatogènes est limité, et en même temps un inconvénient car cette hypothèse ne permet pas de voir émerger de nouveaux pathogènes. Ces méthodes manquent de standardisation et le faible nombre d'études émidémiologiques qui recourent à ces méthodes limitent encore leur validation.

A l'inverse des méthodes de qPCR, les approches métagénomiques sont des méthodes sans *a priori*, qui permettent la détection de l'ensemble des espèces présentes, y compris les espèces non cultivables. Cependant, elles nécessitent un matériel spécifique (notamment pour les séquenceurs haut débit) et une expertise en bioinformatique. En raison de leur coûts, il n'est pas envisageable de les utiliser en routine actuellement. Par ailleurs, elles nécessitent d'être évaluées dans le cadre d'approches multidisciplinaires associant des aspects épidémiologiques.

L'Annexe 8.2 valorise le recueil des données de la littérature relative à la mise en œuvre sur le terrain de la mesure à partir de technique de biologie moléculaire à travers l'indice ERMI, la méthode NGS et métagénomique.

Autres méthodes :

D'autres méthodes ont aussi été développées ces dernières années pour caractériser les produits amplifiés comme le Southern-blot avec l'emploi d'une sonde, l'étude du polymorphisme de conformation des simples brins (SSCP), ou les migrations en gel dénaturant (PCR-denaturing high-performance liquid chromatography – PCR-DHPLC ; l'électrophorèse sur gradient dénaturant (DGGE), la PCR-temperature temporal gradient electrophoresis (PCR-TTGE). Certaines ne sont plus utilisées car remplacées par d'autres techniques. D'autres ne présentent pas une reproductibilité et une répétabilité suffisantes pour fournir des données fiables et donc comparables entre laboratoires. De plus, ces analyses nécessitent l'ouverture des tubes contenant les produits amplifiés, et augmentent le risque de contamination de l'environnement du laboratoire, principale cause de résultats faussement positifs. Ces méthodes ne sont donc pas décrites dans ce rapport car elles ne peuvent pas être recommandées comme méthode d'analyses consensuelles.

3.2.3.4 Le comptage particulaire

Les compteurs de particules permettent la mesure instantanée et en continu de la concentration et de la granulométrie des particules dans l'air. Le résultat est exprimé en nombre de particules par volume d'air. L'air aspiré passe dans une cellule de mesure optique. Lorsqu'une particule entre dans la cellule de mesure, elle traverse le faisceau laser et produit une diffraction de la lumière qui est mesurée par un photo-détecteur. L'intensité de la lumière diffuse varie en fonction de la taille des particules. Une photodiode détecte et convertit le signal lumineux en impulsions électriques dont l'amplitude est proportionnelle à la taille des particules. Un analyseur de pics permet ensuite de classer les particules dans des canaux selon leurs tailles dans une étendue allant en général de 0,3 µm jusqu'à 10 µm. L'ensemble de l'air échantillonné peut être récupéré sur un filtre, permettant ainsi une analyse gravimétrique ou chimique de la poussière récoltée (cas du Grimm®).

Le principal avantage du comptage particulaire est de permettre l'obtention d'un résultat instantané enregistré en continu. Cependant cette mesure n'est pas spécifique aux moisissures, toute particule vivante ou inerte dont la taille est comprise entre 0,3 µm et 10 µm peut être détectée.

L'Annexe 8.3 valorise le recueil des données de la littérature relative à la mise en œuvre sur le terrain du comptage particulaire pour comprendre les mécanismes de libération des spores et des fragments fongiques dans l'air.

3.2.3.5 Recherche de métabolites primaires et secondaires

Métabolites primaires

Le rapport de 2006 du CSHPF décrit le principe des méthodes de dosage des glucanes, de la chitine, des polysaccharides extracellulaires (EPS) et de l'ergostérol.

Les glucanes sont des constituants de la paroi des spores fongiques. Les méthodes de dosage sont peu spécifiques car les glucanes sont également présents chez les végétaux. Les dosages ne donnent pas d'information sur les espèces.

La teneur en chitine est variable d'une espèce fongique à l'autre ce qui biaise la quantification. Des interférences existent avec la chitine des insectes.

Les EPS sont dosés par des méthodes immunochimiques avec une spécificité au genre mais pas à l'espèce.

L'ergostérol, principal constituant de la membrane des moisissures, est dosé par chromatographie en phase liquide (HPLC) ou chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse. La sensibilité est suffisante pour le dosage dans l'air.

Depuis 2006, la quantification par dosage immunochimique ELISA (méthode non commercialisée) des EPS d'*Aspergillus* et de *Penicillium* est possible et est considérée par certaines équipes comme un indicateur de la biomasse fongique (Gehring, 2007).

<u>Métabolites secondaires</u>

L'émission de métabolites secondaires (COVm, mycotoxines) par les moisissures est dépendante des espèces considérées et de leurs conditions de croissance (nature du support notamment).

Les mycotoxines sont retrouvées dans les spores, filaments, sur les supports de croissance ou adsorbées sur les poussières. Il est dénombré plus de 300 mycotoxines, émises par de nombreuses espèces de façon variable. Dans l'alimentation, la présence des principales mycotoxines est réglementée du fait de leur pathogénicité prouvée. Le dosage se fait par chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse. Il existe également des kits commercialisés utilisant des anticorps monoclonaux pour la recherche de mycotoxines, en particulier les trichothécènes (Johanning, 2009, Charpin-Kadouch, 2006).

Le dosage dans l'air est peu répandu du fait du manque de sensibilité des méthodes par rapport aux quantités présentes et du fait du manque de preuve de la pathogénicité des mycotoxines par inhalation.

<u>Recherche d'antigènes par méthodes ELISA</u>

Ces molécules sont dosées par des méthodes immuno-chimiques (de type ELISA) directes ou indirectes dont la sensibilité et la spécificté dépendent des antigènes utilisés dans le test. Dans les environnements intérieurs, les allergènes fongiques sont recherchés dans la poussière, rarement dans l'air car les quantités y sont moindres et sont en dessous des seuils de détection des tests ELISA.

Des tests ELISA commercialisés sont disponibles pour certains antigènes fongiques d'*Aspergillus fumigatus* (Lang-Yona, 2013), d'*Alternaria alternata* (Peters 2008, Cho, 2006b), d'*Aspergillus versicolor* (Zahradnik, 2013) et de *Stachybotrys chartarum*.

Néanmoins, leur utilisation comme marqueurs d'exposition dans les environnements intérieurs présente des limites. En effet, ce type d'analyse est peu sensible. Les tests commercialisés ne sont disponibles que pour quelques espèces ciblées ce qui ne permett pas de caractériser simplement et de manière exhaustive un environnement. Il existe des kits pour tester plusieurs allergènes dans une même analyse, mais la plupart des tests proposés permettent le dosage d'un seul allergène à la fois. L'existence d'importantes réactions croisées peut gêner l'interprétation.

<u>Halogen immunoassay (HIA)</u>

La recherche d'allergènes fongiques par HIA constitue une approche innovante permettant de caractériser la diversité des aéroallergènes provoquant une réaction chez un individu dans son propre environnement. Les allergènes présents dans l'air sont identifiés par marquage immunologique après réaction avec les IgE sériques d'individus sensibilisés.

L'approche par HIA permet de déterminer la contribution des allergènes fongiques et non fongiques dans l'exposition globale aux allergènes de l'air. La plupart des spores de moisissures et les grains de pollen associés au marquage immunologique par les IgE peuvent être identifiés. Par contre pour de nombreuses autres particules l'identification ne peut pas se faire directement mais seulement après utilisation d'anticorps monoclonaux spécifiques. L'étape de germination des spores avant l'incubation, pour augmenter la sensibilité analytique, a pour effet de surestimer les aéroallergènes de moisissures par rapport aux autres aéroallergènes. Cette méthode reste semi-quantitative.

L'HIA présente l'avantage de détecter spécifiquement les aéroallergènes ayant induit une production d'IgE chez un individu sensibilisé. La mesure de l'exposition individuelle par HIA parait intéressante pour étudier la relation existant entre exposition/sensibilisation/symptômes. De plus, les aéro-allergènes de l'air intérieur mis en évidence par l'analyse HIA ne sont pas prédéfinis.

Cependant, cette méthode ne permet pas de caractériser un environnement dans son ensemble car elle met en évidence uniquement les antigènes ayant induit la production d'IgE.

Conclusions :

Les tests ELISA classiques ne sont pas assez sensibles pour détecter des antigènes fongiques dans les environnements intérieurs non professionnels. De plus, un nombre très limité de tests existe au regard de la variété d'espèces fongiques présentes dans les environnements intérieurs. L'approche par HIA est innovante et intéressante car elle met en évidence les antigènes fongiques provoquant une réaction IgE médiée, sans *a priori* sur les espèces recherchées. Cependant elle a été peu utilisée probablement en raison de difficultés de mise en œuvre (difficulté de lecture, bruit de fond, surestimation lors de l'étape d'incubation…). De plus, seules les spores fongiques caractéristiques peuvent être différenciées directement au microscope.

L'Annexe 8.3 valorise le recueil des données de la littérature relative à la mise en œuvre sur le terrain de la mesure des allergènes.

ATPmétrie (bioluminescence)

Le principe de l'estimation de la charge microbiologique par dosage de l'ATP repose sur la propriété qu'ont toutes les cellules vivantes à produire cette molécule à partir de la dégradation des acides aminés, acides gras et glucides ; l'ATP constituant la principale source d'énergie cellulaire. Doser cette molécule, peut, par conséquent, renseigner sur la biomasse microbienne vivante, c'est à dire active métaboliquement, présente dans un échantillon.

Dans l'environnement, l'ATP est dosé par bioluminescence. Cette méthode est facile à mettre en œuvre, de plus elle est sensible et reproductible. L'ATP microbien est extrait après lyse chimique puis dosé grâce à une réaction enzymatique couplée à une détection par bioluminescence. La réaction enzymatique met en jeu la luciférase et son substrat, la luciférine. La réaction est dite endergonique c'est-à-dire qu'elle consomme des molécules d'ATP en produisant des photons. L'émission de photons est proportionnelle à la quantité d'ATP consommée. L'intensité lumineuse est mesurée grâce à un luminomètre (photomètre) ; le résultat est donné en RLU (Unités Relatives de Lumière) puis converti en pg d'ATP.mL^{-1} ou pg d'ATP.cm^{-2} à l'aide d'une courbe de calibration.

Il est établi qu'une bactérie contient environ 1 femtogramme d'ATP. Toutefois, cette teneur fluctue selon l'espèce et son état physiologique. De plus, la teneur en ATP est dépendante du type de cellules, eucaryote ou procaryote : ainsi, une cellule fongique contient plus d'ATP qu'une cellule bactérienne.

L'avantage du dosage de l'ATP réside dans sa rapidité de mise en œuvre : 25 min pour obtenir un résultat en incluant le temps de prélèvement selon les auteurs. Cette méthode ne permetni de quantifier ni d'identifier les micro-organismes mais a pour but d'estimer la charge globale microbienne métaboliquement active dans un échantillon.

Enzyme β-N-acetylhexosaminidase (NAHA)

Le dosage de l'activité de la N-acetylhexosaminidase (NAHA) constitue une approche biochimique pour la détermination de la biomasse fongique. Le principe de cette méthode repose sur l'ajout, à la membrane de prélèvement, du substrat fluorogène de l'enzyme (4-methylumbelliferyl N-acetyl-beta-D-glucosaminide) pour une incubation de 30 minutes puis d'un révélateur alcalin avant lecture de la fluorescence. Les résultats sont exprimés en unité de NAHA.m^{-3}. Une unité de NAHA correspond à 2,3 ng *Aspergillus oryzae*.

Malgré le fait que plusieurs études montrent qu'il existe une bonne corrélation entre la biomasse fongique mesurée par l'activité de la NAHA et le comptage de spores fongiques ou la mesure de

l'ergostérol notamment, la principale limitation de cette méthode réside dans le fait que la NAHA n'est pas spécifique des moisissures, elle est également synthétisée par des bactéries, des protozoaires et des cellules de mammifères.

Conclusions :

Les dosages de l'ATP et de la NAHA dans un échantillon environnemental pour apprécier la flore fongique sont des méthodes rapides, faciles à mettre en œuvre et peu coûteuses mais non spécifiques des moisissures.

L'Annexe 8.3 valorise le recueil des données de la littérature relative à la mise en œuvre sur le terrain du dosage de l'ATP et du NAHA.

Composés organiques volatils microbiens (COV_m)

Les moisissures produisent des composés organiques volatiles d'origine fongique (COV_m) capables d'induire des irritations et de déclencher des inflammations sans que des valeurs limites de concentration, concernant leur inhalation, aient pu être établies (Goyer & Lavoie, 2001).

Les COV_m proviennent du métabolisme fongique et de la dégradation de matériaux sous l'action d'enzymes et d'acides produits par les moisissures lors de leur croissance. La nature et la quantité de COV_m produits dépendent du substrat sur lequel la moisissure se développe, de l'humidité et de l'espèce en cause (Trasher, 2009). Plusieurs dizaines de COV_m peuvent être produits par une seule espèce.

Parmi les COV_m généralement émis, des alcools (hexanol, 2-ethyl-1hexanol, 1-butanol, 3-methyl-1-butanol, 2-methyl-1-propanol, 2 terpineol), des terpènes (limonène), des sesquiterpènes (thujopsène, cedrene, farnesene), des cétones (acétonone, butanone, pentanone, 2-hexanone, 3-octanone), des furanes (pentylfurane), du dimethyl disulfide, des aldéhydes, des composés aromatiques (1.3-dimethoxybenzène), de l'ammoniaque et différents composés amines ont été identifiés (Claeson & Sunesson, 2005 ; Gao & Martin, 2002 ; Nilsson, 2004). L'étude de Schuchardt *et al.* a indiqué que lors de leur phase primaire de croissance, les moisissures émettent des COV_m de bas poids moléculaire (alcools, aldéhydes, cétones), peu spécifiques, alors qu'elles produisent des COV_m de haut poids moléculaire au plateau de croissance (sesquiterpènes, hydrocarbures aromatiques), de spécificité supérieure (Schuchardt, 2009).

Comme ils sont présents sous forme gazeuse, les COVm peuvent traverser les matériaux poreux des bâtiments et entraîner une exposition même lorsque les moisissures prolifèrent dans des espaces fermés (derrière des cloisons par exemple). Le substrat sur lequel les moisissures se développent et les conditions environnementales semblent influencer la production de COVm. Les COV présents dans un environnement intérieur peuvent également provenir d'autres sources telles que les matériaux de construction, les produits ménagers ou encore l'activité humaine. Les concentrations des COVm d'origine fongique, notamment à un stade précoce de contamination, s'avèrent être relativement faibles comparées à l'ensemble des COV présents dans un environnement intérieur.

La séparation des COVm s'effectue à l'aide de la chromatographique liquide à haute performance (HPLC) ou de la chromatographie en phase gazeuse (GC). Ces méthodes chromatographiques servent à séparer les composés présents dans l'échantillon qui peuvent être détectés par conductivité thermique (DCT), comparaison entre la conductivité du gaz vecteur et le COVm, ou par ionisation de flamme (DIF). Le jumelage de la spectrométrie de masse (MS) à la HPLC ou à la GC permet une identification structurale des composés, surtout si elle est utilisée en mode MS/MS. Inévitablement ces techniques de chromatographie ou de spectrométrie de masse demandent, d'une part de se référer à des substances standards ou à une base de données et d'autre part d'accepter une marge d'interprétation entre les profils obtenus et les références. Ce référencement implique une marge d'incertitude. Dans la plupart des cas, les moisissures se développent sur des substrats pauvres en éléments nutritifs et émettent des taux variables (substrat dépendant), discontinues et très faibles de COV_m ($\approx 0.1 \mu g/m^3$), correspondant à la limite de sensibilité des techniques de détection.

Un indice chimique de contamination fongique (ICF) a été développé par le CSTB sur la base de la mesure de COVm spécifiques pour détecter la croissance de moisissures en environnement intérieur (Moularat, 2008). L'ICF est basé sur la détermination d'une empreinte chimique spécifique du développement fongique dans des environnements intérieurs (logements, bureaux, musées ...).

Ainsi, bien que discriminant vis-à-vis de la détection précoce des contaminations fongiques actives, l'ICF pourrait s'avérer peu discriminant en vue de la détermination d'une exposition aux moisissures dans le cadre d'une enquête épidémiologique car, d'une part il ne révèlerait pas des contaminations installées et inactives capables cependant d'émettre des spores et des fragments fongiques dans l'air et d'autre part sa sensibilité pourrait classer un environnement très faiblement contaminé (un joint de salle de bain, par exemple) comme positif.

Conclusion :

La mesure des COV_m est innovante pour détecter une contamination fongique cachée, non accessible aux enquêteurs. Cependant cette mesure n'est pas quantitative et ne permet pas de mesurer une exposition. De plus, elle ne peut pas être mise en œuvre par les laboratoires équipés du matériel de chromatographie en raison du brevet déposé.

L'Annexe 8.3 valorise le recueil des données de la littérature relative à la mise en œuvre sur le terrain de la mesure de COVm à travers l'ICF.

3.2.4 Utilisation d'appateils à lecture directe : proxi

<u>Nez électroniques</u>

Faire appel au nez humain pour caractériser des odeurs nécessiterait désormais de se conformer à une méthode normalisée (norme NF EN 13725 octobre 2003, « Qualité de l'air - Détermination de la concentration d'une odeur par olfactométrie dynamique ») à l'aide d'un jury composé d'un panel de nez humains représentatifs d'une population.

Les nez artificiels (olfactomètre) ou nez électroniques (NE) sont des appareils constitués de capteurs sensibles à différents composés chimiques. Ils peuvent détecter une différence entre l'odeur d'un échantillon de référence et un prélèvement donné.

Parmi les différentes techniques de détection, les capteurs à oxydes métalliques sont les plus utilisés dans la détection des odeurs d'origine fongique et le détecteur à photo-ionisation pour l'analyse et la quantification des COV. Cette dernière technique ne permet cependant pas de corrélation avec la perception globale de l'odeur due aux interactions entre les différents composés odorants.

Les NE ont été essentiellement utilisés dans l'industrie agro-alimentaire et ont bénéficié de développement pour détecter les espèces suivantes :

- *Penicillium (P. expansum*), producteurs de patuline, une mycotoxine présente en particulier dans les jus de pomme ;
- *Penicillium digitatum* responsable du pourrissement des oranges (Gruber, 2013) et des citrons (*P. italicum*) (Pallottino, 2012) ;
- Cinq espèces de *Penicillium* utiles ou nuisibles dans la fabrication des fromages (Karlshoj, 2007) ;
- *Aspergillus* dans les produits de boulangerie (Marín, 2007) ;
- Quatre espèces de *Fusarium* délétères pour les céréales (Eifler, 2011) ;
- Des basidiomycètes comestibles (Fujioka, 2013) ;
- Les flaveurs des truffes (Pacioni, 2014).

Certaines odeurs ont été corrélées à la présence d'ergostérol ou de COV. Dans certains cas les NE s'avèrent incapables de détecter la présence de certaines levures (*Brettanomyces*) impliquées dans la couleur des vins (Berna, 2008).

Cet outil prometteur ne semble pas recouvrir suffisamment d'espèces présentes dans l'environnement domestique pour pouvoir déterminer l'origine fongique des odeurs. Les NE peuvent en revanche standardiser et quantifier un paramètre essentiel (l'odeur) jusque-là appréhendé de façon empirique. Cette quantification globale, rapide, pourrait être reliée à d'autres paramètres d'origine fongique comme l'ergostérol dont l'analyse demande une mise en œuvre plus complexe.

3.2.5 Conclusions sur l'évolution des méthodes depuis 2006

Les méthodes de prélèvement

Lorsque les techniques de prélèvements décrites dans le rapport du CSHPF de 2006 sont comparées à celle de la littérature sur les 10 dernières années, peu de changement est constaté. Les impacteurs à cribles sont très utilisés car ils sont facilement transportables et permettent de réaliser rapidement un prélèvement. Cette caractéristique les rend pratique sur le terrain mais est également dommageable car la justesse de la mesure en est diminuée et il faudrait répéter les prélèvements au moins 5 fois pour être représentatif de l'ensemble de la contamination d'une pièce. Les capteurs portables (cassette 3 sections, échantillonneur IOM, CIP10) continuent à être utilisés pour mesurer l'exposition individuelle ou la contamination globale d'un environnement sur une période de plusieurs heures. Le support de prélèvement est rincé, ce qui permet de réaliser des cultures ou des dosages de composés divers. Les cyclones ou appareils de type Coriolis® ont été développés ces dernières années et permettent à la fois la réalisation de prélèvements sur un temps supérieur aux impacteurs et une récupération direct des polluants de l'air dans un liquide, sans l'étape de rinçage dommageable aux pompes à filtres. Il n'y a pas eu d'évolution dans les méthodes de prélèvements des surfaces.

Dans le rapport du CSHPF, les prélèvements de poussières décrits consistaient à aspirer la poussière selon un protocole défini. En 2008, une équipe néerlandaise a évalué l'utilisation des capteurs électrostatiques de poussière pour la capture et le dosage des endotoxines (Noss, 2008). Ce mode de prélèvement est pratique, peu coûteux et permet des prélèvements de longue durée. Cependant il n'y a pas assez de données d'interprétation disponibles et le dispositif doit faire l'objet d'une évaluation complète. Le rapport entre les concentrations de moisissures de l'aérosol et les poussières n'est pas clairement établi.

Les méthodes d'analyses

Les méthodes par culture, déjà décrites dans le rapport du CSHPF de 2006, sont beaucoup utilisées. Elles présentent l'avantage de permettre une comparaison des résultats. En culture, il existe un biais lié à la compétition entre les espèces cultivables sur la boîte de gélose ce qui peut aboutir à sous-estimer des espèces par rapport à leur présence réelle sur le support.

Ces méthodes de culture nécessitent une expertise pour l'identification morphologique des espèces. Des développements de méthodes récentes permettent de s'affranchir en partie de cette expertise. Il s'agit de la spectrométrie de masse MALDI-TOF et du barcoding. Ces deux méthodes permettent une identification des souches isolées des cultures (moins d'une heure pour la spectrométrie de masse). Le facteur limitant reste la disponibilité et la qualité des bases de données concernant les espèces de l'environnement, limite qui devrait se réduire dans les années à venir car ces banques de données sont incrémentées chaque jour.

Les méthodes qui ne permettant pas de distinguer les espèces fongiques (glucanes, ergostérol, COV_m par exemple) ont peu évolué ces dix dernières années. Elles sont peu utilisées. Elles ne sont pas à privilégier sauf si elles sont accompagnées en parallèle d'une analyse permettant l'identification fongique.

Les principaux développements analytiques sont ceux basés sur l'étude du génome en tout ou partie, s'appuyant sur les récents progrès des techniques de la biologie moléculaire. L'avantage de ces méthodes moléculaires par rapport à la culture est qu'elles mettent également en évidence les espèces non cultivables et les cellules mortes (non revivifiables) mais potentiellement allergisantes.

L'étude de l'environnement a beaucoup bénéficié de la détection d'espèces ciblées par PCR. La généralisation de la PCR quantitative pour laquelle des critères de validation existent permet une meilleure fiabilité que les techniques antérieures (pas de contamination de l'environnement avec les produits amplifiés et aspect quantitatif) et donc une détection reproductible entre laboratoires. Les techniques de PCR supposent cependant un choix parmi les espèces à détecter. Les approches métagénomiques (NGS) contrairement à la qPCR sont « sans a priori » et devraient permettre de recenser l'ensemble des espèces cultivables et non cultivables, ainsi que les espèces inconnues à ce jour (OTU). Les approches métagénomiques ne sont pour l'instant pas applicables en routine et requièrent des bio-informaticiens spécialisés.

3.2.6 Comparaison des méthodes

Pour la comparaison des méthodes de mesure, un tableau s'inspirant de référentiels de la société française d'hygiène hospitalière (SF2H) est proposé à partir de critères de faisabilité sur des aspects techniques, d'intérêt, de performance qui sont distinguées en fonction de l'étape de prélèvement et celle de l'analyse.
Ces référentiels concernent la surveillance mycologique de l'environnement en milieu hospitalier, notamment les recommandations et l'utilisation de niveau de preuve pour les mesures de gestion du risque aspergillaire (SF2H, 2000) et du risque infectieux (SF2H, 2011).

Pour les types de prélèvements, seules les techniques les plus courantes ont été retenues (exclusion des prélèvements d'air par sédimentation ou filtration). Les critères utilisés pour la comparaison des techniques de prélèvement incluent, en termes de faisabilité, le coût (lié à l'achat de matériel spécifique ou de réactifs et consommables), l'expertise requise pour la réalisation du prélèvement et la nécessité ou non d'un déplacement à domicile. Les méthodes d'analyse applicables sur le prélèvement réalisé ont également été prises en compte. Enfin, les intérêts et limites ont été précisés (cf. Tableau 1).

Ces critères ont permis de faire ressortir les constats suivants :

- Les prélèvements surfaciques ou de matériaux sont les plus simples à mettre en œuvre, notamment les prélèvements surfaciques par scotch ou écouvillonnage, qui nécessitent peu de technicité et peuvent être réalisés par les résidents. Ils sont cependant représentatifs de la contamination de la surface (uniquement sur la zone prélevée) ou du matériau, mais pas de l'exposition aérienne.
- Les prélèvements d'air sont les plus contraignants en terme de faisabilité (nécessité d'un appareil spécifique et, pour l'impaction, de milieux de cultures qui doivent être conservés à +4°C avant prélèvement et acheminés dans les 24h au laboratoire après prélèvement ; nécessité du déplacement d'une personne formée dans le logement). Ils présentent cependant l'avantage de permettre une mesure quantitative du niveau de contamination fongique (concentrations aéroportées), mais qui reste limitée par la durée généralement courte du prélèvement (de quelques minutes pour les appareils portatifs à quelques heures pour les capteurs individuels).
- Les prélèvements de poussières semblent constituer le meilleur compromis entre les différents types de prélèvemen. Mais les techniques utilisées sont très variables, notamment pour les prélèvements par aspiration (pièce, taille de la surface aspirée, temps d'aspiration), et les conditions d'utilisation du logement (fréquence de nettoyage des sols, fréquence d'aération qui peut moduler la proportion des poussières provenant de l'extérieur présentes dans le prélèvement) peuvent influencer les résultats. Les capteurs électrostatiques, qui présentent l'avantage de ne pas nécessiter de déplacement au

domicile, pourraient par ailleurs permettre d'obtenir une meilleure standardisation, notamment pour une évaluation quantitative reflétant l'exposition. Une évaluation reste cependant nécessaire pour établir les modalités d'utilisation et valider ce dispositif pour la mesure de l'exposition aux moisissures dans le cadre d'études épidémiologiques.

Pour la plupart de ces prélèvements, l'ensemble des méthodes d'analyse (microscopie, culture, biologie moléculaire et recherche de composés fongiques tels que les allergènes, COV_m, ou mycotoxines) sont applicables.

Pour ce qui concerne l'analyse des prélèvements, les méthodes ont été comparées en termes de faisabilité (coût matériel, réactifs et consommables, temps et compétences nécessaires), et de performances, en tenant compte, d'une part, de l'intérêt de la méthode pour la quantification de l'exposition, et, d'autre part, des possibilités de caractérisation qualitative de la flore fongique (genres et espèces présentes). Cette dernière peut permettre d'identifier des sources de contamination et d'évaluer le risque sanitaire (en fonction de la pathogénicité des espèces présentes) (cf. Tableau 2).

Sur la base de ces critères, la culture reste la méthode la plus adaptée pour la caractérisation de la contamination fongique de l'environnement intérieur. Les nouvelles techniques d'analyse que sont la spectrométrie de masse et le séquençage permettent de pallier en partie les difficultés d'identification. La principale limite est liée à l'exhaustivité des espèces mises en évidence. En effet, seule la part cultivable de la microflore est visible par culture alors que des microorganismes difficilement ou non cultivables peuvent aussi constituer une pollution et être à l'origine de pathologies. Les méthodes de biologie moléculaire par qPCR permettent de s'affranchir de cette limite, mais elles nécessitent un ciblage *a priori* des espèces recherchées, à l'inverse des méthodes de séquençage haut débit qui sont prometteuses car permettent une caractérisation plus large de la flore fongique. Les difficultés de mise en œuvre sont liées au coût et à la technicité non encore communément maitrisée. Étant donné que le séquençage haut débit est en voie de se généraliser dans la plupart des domaines de la biologie, on peut supposer que ces difficultés vont diminuer dans les années à venir.

Tableau 1 : Comparaison des différents types de prélèvements

Méthodes retenues	Faisabilité				Principales méthodes d'analyse appliquées				Intérêt dans le cadre d'enquêtes dans un environnement intérieur*
	Nécessité d'achat d'appareils spécifiques (>500€)	Nécessité d'un déplacement à domicile	Nécessité de compé-tences et formations	Coût réactifs & consommables	Micro-scopie	Culture	Biologie moléculaire	Détection de composés fongiques	
Air *Appareils portatifs :* *Impaction sur boite de Petri* *Cyclone* *Capteurs individuels (impaction ou filtration)*	Oui Oui Oui	Oui Oui Oui	Oui Oui Oui	Modéré Modéré Modéré	 X X (si filtration)	X X X	 X X (si impaction en milieu liquide)	 X X	Avantage : mesure de concentrations aériennes de spores ou composés fongiques Intérêt en cas de présence de moisissures visibles ou non. Limite : représentativité de l'exposition aérienne si la durée d'échantillonnage est courte (quelques minutes pour les appareils portatifs).
Poussières *Aspiration* *Capteurs électrostatiques*	Non Non	Non Non	Non Non	Modéré Modéré	X X	X X	X X	X X	Avantage : mesure de concentrations des spores sédimentées, considérés comme représentatifs du réservoir aérien et d'une exposition plus longue. Intérêt en cas de présence de moisissures visibles ou non Limite : Difficulté de standardisation
Surface *Ruban adhésif* *Ecouvillon* *Géloses contact*	Non Non Non	Non Non Oui	Non Non Oui	Faible Faible Modéré	X X	X X X	X	X	Avantage : identification des espèces présentes sur la(les) zone(s) prélevées en cas de moisissures visibles. Limite : Difficulté de standardisation Non représentatifs des espèces présentes sur la totalité de la surface moisie et dans l'air.
Matériaux (moquette, bois, débris de mur,…)	Non	Non	Non	Faible	X	X	X	X	

*Si l'enquête est réalisée pour un problème de santé (prescription médicale), des prélèvements d'air ou de poussières peuvent être effectués pour quantifier le niveau fongique et identifier les espèces présentes afin de réaliser des explorations ciblées (ex : sérologies spécifiques) et confirmer le rôle de l'exposition fongique domiciliaire dans le développement des pathologies diagnostiquées.

Tableau 2 : Comparaison des différents méthodes d'analyse (mesures des moisissures ou de composés fongiques (ADN, antigènes, COV, mycotoxines,…))

Principales méthodes d'analyse	**Faisabilité**				**Performances**	
	Coût des équipements	Compétences nécessaires	Coût (réactifs, consommables, temps)	***Note globale***	**Quantification de l'exposition fongique**	**Caractérisation de la flore fongique** (taxonomie, identification de nouvelles espèces,…)
Examen microscopique direct (sans culture) ± comptage	1	3	1	***3***	B (si comptage sur filtre)	C
Culture						
Détection et dénombrement	2	2	2	***8***	B	Non applicable
Identification					Non applicable	
Morphologique	2	4	1	***8***		B
Spectrométrie de masse Maldi-tof	4	2	1	***8***		B
Identification par séquençage	3	3	3	***27***		B
Détection par biologie moléculaire						
qPCR	4	3	2	***24***	B	B
Séquençage haut débit						
Analyse d'amplicons	4	4	4	***64***	Non applicable	B
Séquence de génome complet (WGS)	4	4	4	***64***	Non applicable	A
Recherche de composés fongiques						Non applicable
Ergostérol	3	3	3	***27***	B	
B-D glucanes	2	3	3	***24***	C	
Allergènes fongiques par ELISA	2	3	2	***12***	C	
Halogen immunoassay (HIA)	2	3	2	***12***	Non applicable	
Métabolites secondaires et substances émises, activité fongique						
COV_m	4	4	3	***48***	D	Non applicable
Mycotoxines	4	4	3	***48***	C	C

Faisabilité : de 1 « Facile à mettre en œuvre » à 4 « Difficile à mettre en œuvre »
Performances pour la quantification de l'exposition ou la caractérisation de la flore fongique : de A « très bonnes performances » à D « performances mauvaises »

3.3 Conclusion

Du fait des particularités écologiques des espèces fongiques et dans l'ignorance de leurs effets pathogènes pour la plupart, il est important d'avoir une identification la plus précise possible des espèces identifiées dans l'environnement intérieur. Actuellement, l'accent doit être mis sur les espèces majoritaires, tout en sachant que le rôle de certaines espèces minoritaires ne peut être complètement écarté.

Les approches possibles pour la caractérisation de la flore fongique dans les environnements intérieurs sont multiples, aussi bien en terme de prélèvement (surface, air, poussières, matériaux) que d'analyse, avec des méthodes qui peuvent cibler aussi bien le champignon lui-même, que ses composants ou des substances émises. Si cette multiplicité reflète la complexité de l'exposition, elle représente une limite majeure pour la standardisation et la validation des méthodes, ainsi que pour la détermination de valeurs limites.

Néanmoins, notre analyse a permis de faire ressortir les constats suivants :

- En termes de prélèvement :
  - La caractérisation de la contamination fongique est déterminée en premier lieu par le type de prélèvement réalisé. Ainsi, si les prélèvements d'air ou de poussières peuvent être représentatifs à la fois d'une contamination de l'habitat et d'une exposition, les prélèvements de surfaces ou de matériaux se limitent à une caractérisation des zones prélevées. La réalisation de prélèvements d'air, de surface et de matériaux a récemment fait l'objet de normes, dont une norme spécifique à la stratégie d'échantillonnage.
  - En parallèle, des méthodes décrites dans le rapport du CSHPF ne sont plus couramment utilisées pour l'évaluation de la contamination de l'environnement intérieur (sédimentation sur boite de Petri, impaction sur support adhésif et précipitation électrostatique). De nouveaux appareils pour l'impaction en milieu liquide, pour la filtration et de nouveaux dispositifs pour le recueil des poussières par sédimentation, ont émergé.

- En termes d'analyse :
  - De nombreuses méthodes d'analyses non spécifiques (nez électronique, ATPmétrie, comptage particulaire,…) s'avèrent peu pertinentes pour la caractérisation de la contamination des moisissures dans les environnements intérieurs.
  - Parmi les méthodes spécifiques de biologie moléculaire, certaines faisant appel à des gels de migration (DHPLC, DGGE, …) présentent des performances moindres que les systèmes clos (qPCR), et donc des perspectives faibles de développement.
  - Les méthodes par culture, à partir de prélèvements d'air, de surfaces, de matériaux ou de poussières, sont les plus utilisées. L'analyse des moisissures par culture a récemment fait l'objet d'une norme (NF ISO 16000-17) qui devrait permettre une harmonisation des méthodes, et faciliter l'agrégation et la comparaison des données produites par l'ensemble de la communauté scientifique au niveau international. Par ailleurs, les évolutions des méthodes de prélèvements et d'identification (biologie moléculaire, spectrométrie de masse) ouvrent de nouvelles perspectives pour la caractérisation de la flore fongique.
  - Les méthodes de biologie moléculaire (qPCR et métagénomique par séquençage haut débit) ont été développées plus récemment. La qPCR permet une approche quantitative, mais elle manque encore de standardisation. Elle nécessite un choix préalable a priori des espèces ciblées, à l'inverse des approches par séquençage haut débit qui permettent la détection de l'ensemble des espèces présentes et une

caractérisation exhaustive de la diversité fongique. Ces méthodes ouvrent la perspective d'un nouveau champ d'expertise.

A partir de ces constats, notamment ceux concernant l'intérêt des différents types de prélèvements, il apparaît nécessaire comme cela avait été fait dans le rapport du CSHPF, de distinguer les cas où l'objectif est uniquement la caractérisation de l'habitat de ceux où la caractérisation de l'habitat et ses potentiels effets sur la santé sont recherchés.

4 Effets sur la santé liés aux moisissures

4.1 Introduction

L'exposition aux moisissures confronte l'Homme à trois grands types de risques pour la santé : le risque allergique, le risque toxique ou inflammatoire et enfin le risque infectieux.

Le **risque allergique** est le plus documenté, notamment au niveau respiratoire. L'essentiel de la présente expertise des effets sur la santé liés à une exposition fongique par inhalation porte sur l'asthme et la rhinite allergique. Les symptômes observés lors du déclenchement d'une réaction allergique résultent de la mise en jeu d'une réponse immunitaire spécifique avec production d'anticorps (IgE principalement). Le seuil de réactivité allergique varie d'un individu à l'autre et la sévérité de la réaction allergique n'est pas proportionnelle à la dose d'exposition. Toutefois, même dans le cas des allergies respiratoires, l'exposition fongique pourrait avoir un effet *via* des mécanismes inflammatoires non allergiques.

Le **risque toxique ou inflammatoire** est lié à l'exposition aux composants des moisissures (spores fongiques, β-glucanes et autres composants de la paroi cellulaire du mycélium) et/ou à leurs produits métaboliques (mycotoxines, COV_m). Les effets observés sont de sévérité variable, de type aigu ou chronique. A l'heure actuelle, l'implication de ces aérobiocontaminants d'origine fongique dans le développement d'effets sanitaires chez l'Homme et les mécanismes physiopathologiques associés sont encore mal compris et non démontrés. Les réponses inflammatoires observées incluent la libération d'histamine par des mécanismes autres que ceux médiés par les IgE, expliquant l'apparition de symptômes de type allergique, même chez les personnes non sensibilisées.

Il n'est pas toujours évident de distinguer les effets allergiques des effets inflammatoires dits « non-allergiques » correspondant à des symptômes identiques mais mettant en jeu une réponse immunitaire spécifique dans le cas d'une réaction allergique, et non spécifique dans le cas d'une réaction inflammatoire.

Le **risque infectieux** lié à une exposition par inhalation aux moisissures dans les environnements intérieurs, à savoir la multiplication du champignon dans l'organisme hôte associée à l'apparition de symptômes, concerne principalement le développement d'infections fongiques opportunistes. Le développement de ces pathologies dépend principalement du statut immunitaire de l'hôte : état d'immunodépression lié à une pathologie ou à la prise de traitements médicamenteux (exemples : patients hospitalisés et en centres de soins, malades du cancer non hospitalisés, patients ayant fait l'objet d'une greffe d'organes et malades atteints du SIDA). Ce risque infectieux, très spécifique et bien documenté, sera abordé dans le chapitre 5.4.

4.2 Synthèse des conclusions des travaux précédents

L'objet du présent rapport est d'apporter des éléments nouveaux d'informations concernant la compréhension des liens entre l'exposition aux moisissures et la santé humaine.

Plusieurs rapports récents se sont intéressés à l'étude des relations entre l'exposition des individus à un habitat humide et aux microorganismes présents dans ces environnements, et l'existence d'effets sur la santé : IOM (2004), CSHPF (2006) et OMS (2009).

- Le CSHPF (2006) s'est attaché à dresser un **état des connaissances concernant les effets potentiels des moisissures sur la santé respiratoire, dans le contexte d'un**

habitat humide sans faire la distinction entre les éléments issus d'études épidémiologiques, cliniques ou expérimentales.

- L'IOM (2004) a fait la distinction entre les **effets liés à l'exposition aux environnements intérieurs humides et les effets liés à la <u>présence de moisissures ou d'autres agents</u> dans les environnements intérieurs humides**. Son analyse est basée sur une revue de la littérature (études épidémiologiques, cliniques et toxicologiques). Il s'est intéressé à tous les types d'effets, pas uniquement les effets respiratoires.
- L'OMS (2009) s'est intéressée aux **effets sanitaires associés à l'exposition à l'humidité et aux moisissures**. Son analyse est basée sur une revue de la littérature (études épidémiologiques, cliniques et toxicologiques) des effets liés à l'humidité, aux moisissures et autres agents des environnements humides, incluant les données issues du rapport de l'IOM (2004).

Une synthèse des données issues de ces rapports est proposée dans cette partie.

Le rapport du CSHPF (2006) précise en préambule que l'atopie, l'asthme et le développement de symptômes respiratoires chez le jeune enfant ou chez l'adulte ont été observés en lien avec ce type d'exposition. La sévérité de l'asthme serait liée à l'importance de l'humidité. Le mécanisme exact à l'origine des effets sanitaires associés à l'humidité des environnements intérieurs n'a pas été élucidé : la présence de spores totales n'est pas toujours corrélée avec les paramètres respiratoires mesurés, une co-exposition aux moisissures et aux acariens pourrait être à l'origine du déclenchement des réactions allergiques observées et des mécanismes non allergiques sont également susceptibles d'être en cause (mécanisme inflammatoire, via la présence de mycotoxines ou de β-glucanes ou encore mécanisme infectieux). Le CSHPF présente les données sans faire la distinction entre les éléments issus d'études épidémiologiques, cliniques ou expérimentales. Seules les pathologies respiratoires induites par les moisissures sont décrites dans ce rapport. Le CSHPF distingue les effets « allergiques », les effets « toxiques ou inflammatoires », et les effets « infectieux » (non développés dans le cadre de cette expertise).

L'exposition aux moisissures est susceptible d'entrainer 3 types de réactions allergiques respiratoires :

1) les réactions médiées par les IgE, responsables d'une atteinte bronchique (toux, sifflements ou asthme) incriminant fréquemment *Alternaria* (surtout chez l'adolescent), *Cladosporium, Penicillium*, et *Aspergillus ;*

2) l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA), maladie pulmonaire rare due à une hypersensibilité aux spores d'Aspergillus fumigatus et concerne préférentiellement les patients présentant un asthme persistant ou atteints de mucoviscidose, de mécanisme mixte (IgE et IgG dépendant) ;

3) les alvéolites allergiques extrinsèques (AAE) ou pneumopathies d'hypersensibilité (PHS) ou poumon de fermier (PDF), pneumopathies à composante immunologique, liées à l'inhalation chronique de moisissures chez les personnes sensibles, avec une réaction immunologique de type humoral IgG et cellulaire et pouvant évoluer vers une insuffisance respiratoire chronique. Ces pathologies touchent préférentiellement les professionnels de certains secteurs agricoles (fermiers, milieu de production laitière). Les AAE d'origine domestique sont moins bien décrites et les agents étiologiques sont très divers (*Penicillium, Aspergillus*).

Le CSHPF décrit ensuite les effets toxiques et inflammatoires induits par les aérobiocontaminants rencontrés dans les logements contaminés par les moisissures et leurs principaux effets. Ce type d'effets peut apparaitre en lien avec une exposition aux composants des moisissures (spores, β-glucanes) et/ou à leurs produits métaboliques (mycotoxines, COV_m). Les effets des β-glucanes et des mycotoxines ont été développés par l'OMS dans son rapport et seront donc explicités un peu plus loin dans cette partie.

L'exposition aux COV_m est suspectée d'être à l'origine d'effets respiratoires. Présents sous forme gazeuse, ces composés (alcools, aldéhydes, cétones, éthers, esters, terpènes et terpénoïdes ou encore composés aromatiques) sont émis tout au long du développement des moisissures et peuvent diffuser au travers des matériaux poreux des bâtiments. Des proliférations fongiques masquées peuvent ainsi entraîner une exposition aux COV_m. Certains de ces composés sont incriminés dans l'apparition d'odeurs dans les environnements intérieurs (la géosmine, le 1-octen-3-ol, le 2-octen-1-ol, le 3-octanol, ou encore le 3-octanone) mais leurs effets potentiels sur la santé sont encore controversés. Des symptômes d'irritation des yeux, du nez et de la gorge ont été rapportés en présence de fortes odeurs produites par une croissance abondante de moisissures sans que le mécanisme causal n'ait pu être élucidé. Certains auteurs soupçonnent les COVm de jouer un rôle dans le Syndrome des Bâtiments Malsains (SBS).

L'aboutissement de l'étude des effets sanitaires liés aux moisissures dans le rapport du CSHPF (2006) est un tableau présentant les moisissures fréquemment rencontrées dans les environnements intérieurs humides et leurs effets pathogènes potentiels (voir Tableau 3 ci-après).

Tableau 3 : Moisissures fréquemment identifiées dans les environnements intérieurs humides et leurs effets pathogènes potentiels (CSHPF, 2006)

NOM	Effet Infectieux	Effet allergisant	Alvéolite	Effet toxique
Acremonium	-	X	-	-
Alternaria alternata	-	X	-	-
Aspergillus flavus	X	X	-	X
Aspergillus fumigatus	X	X	X	X
Aspergillus niger	X	-	-	-
Aspergillus versicolor	-	X	X	X
Aureobasidium	-	X	-	-
Chaetomium	-	X	-	-
Cladosporium sphaerospermum	-	X	-	-
Epicoccum	-	X	-	-
Fusarium	X	X	X	-
Mucorales : Mucor, Absidia, Rhizopus	X	X	X	X
Penicillium sp.	-	X	X	-
Stachybotrys chartarum	-	X	-	X
Trichoderma	-	X	-	X
Trichothecium	-	X	-	-

Les rapports de l'IOM (2004) et de l'OMS (2009) décrivent les effets sanitaires associés respectivement à la présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements intérieurs humides, et à l'exposition à l'humidité et aux moisissures par type d'études : épidémiologiques, cliniques et toxicologiques.

➢ ***Données épidémiologiques***

Les données issues des études épidémiologiques recensées dans le rapport de l'OMS concernent strictement les effets respiratoires. Elles ont été confrontées aux conclusions des rapports d'études antérieurs afin de confirmer/infirmer ces résultats et d'améliorer le cas échéant, le niveau de preuve en faveur d'une association ou d'un lien de causalité (plus d'études, études de meilleure qualité). L'OMS a conclu que le niveau de preuve en faveur d'une association entre l'exposition aux facteurs des environnements intérieurs liés à l'humidité et un large éventail d'effets sur la santé respiratoire était suffisant. Les effets incluaient le **développement de l'asthme**, **l'exacerbation de l'asthme**, **l'asthme actuel**, **les infections respiratoires**, **les symptômes des voies respiratoires supérieures**, **la toux**, **la respiration sifflante** et **la dyspnée**. Pour l'OMS, l'exposition à l'humidité dans les environnements intérieurs semblait également être associée à la

bronchite et la rhinite allergique, mais le niveau de preuve a été jugé limité du fait de données contradictoires pour la rhinite allergique ou du faible nombre d'études concernant la bronchite. Pour tous les autres effets sur la santé considérés (altération de la fonction pulmonaire, allergies ou atopie et asthme vie), l'OMS a considéré que les preuves disponibles étaient inadéquates ou insuffisantes pour établir une association.

En accord avec les conclusions de l'IOM en 2004, l'OMS a conclu que **les données analysées ne permettaient pas d'établir une relation causale entre l'exposition aux environnements intérieurs humides et les effets sanitaires observés**. Il est néanmoins précisé que **le niveau de preuve concernant l'exacerbation de l'asthme satisfaisait quasiment aux critères requis pour l'établissement d'une causalité**.

L'approche de l'OMS est limitée par l'absence de données quantitatives et le fait que les conclusions soient basées sur l'appréhension de facteurs qualitatifs liés à l'humidité. Dans ces conditions, il était difficile de relier les conclusions à des expositions spécifiques.

Bien que les effets sanitaires les plus souvent associés à l'humidité et aux agents présents dans les environnements humides portent sur le système respiratoire, des questions existent quant à la survenue d'autres effets sur la santé. Dans son rapport de 2004, l'IOM avait examiné les études épidémiologiques et études de cas rapportant plusieurs autres effets de l'exposition aux moisissures dans le contexte de l'air intérieur. Ces effets incluaient des irritations cutanées, des troubles gastro-intestinaux, de la fatigue, des symptômes neuropsychiatriques, des symptômes du SBS, des cancers, des effets sur la reproduction ainsi que des troubles rhumatologiques et autres maladies du système immunitaire. Le niveau de preuve quant à l'existence d'une association entre ces effets et la présence de moisissures ou d'autres agents dans des environnements intérieurs humides est également discuté dans le rapport de l'IOM.

Au final, peu d'études épidémiologiques se sont intéressées aux effets autres que ceux sur le système respiratoire. L'association entre les expositions fongiques et des infections fongiques opportunistes de la peau chez des personnes gravement immunodéprimées est bien établie. Pour ce qui concerne les autres effets susmentionnés, l'IOM a conclu que les informations étaient inadéquates ou insuffisantes pour déterminer l'existence d'une association avec l'exposition à un environnement intérieur humide ou aux moisissures ou autres agents présents dans des environnements intérieurs humides.

L'IOM (2004) n'a identifié aucune preuve que les prévalences de cancer et d'effets sur la reproduction aient été influencées par l'exposition aux environnements intérieurs. Au moment de la réalisation de son rapport, l'OMS a par ailleurs observé qu'aucune étude sur cette question n'avait été conduite sur les cinq dernières années correspondant à la période couverte par sa revue bibliographique (2003-2007). Concernant la survenue éventuelle d'effets neuropsychiatriques, l'IOM (2004) n'a analysé que quelques études de cas, présentant des résultats contradictoires. Quelques études de cas ont étudié la relation entre la survenue de troubles neuropsychiatriques et l'exposition à des environnements humides ou moisis, mais uniquement chez les personnes ayant un système immunitaire très affaibli ou dans des conditions d'exposition non pertinentes dans le cadre de cette expertise (comme l'ingestion d'aliments contaminés par des moisissures).

L'OMS rapporte qu'un groupe finlandais a étudié l'apparition de maladies rhumatismales associées à l'humidité. Dans deux études, les auteurs ont mis en évidence des clusters de cas de maladies rhumatismales dans les bâtiments endommagés par l'eau et ont suggéré que les symptômes pouvaient être attribués à une exposition aux spores fongiques. Une publication ultérieure suggère que des endotoxines et d'autres déclencheurs de la réponse immunitaire innée présents dans les environnements intérieurs pourraient jouer un rôle dans le développement de pathologies articulaires, bien que les niveaux d'exposition soient beaucoup plus faibles que ceux rencontrés dans des situations où ces effets articulaires sont plus répandus (en milieu agricole et parmi les éleveurs d'oiseaux). L'observation de maladies rhumatismales chez les personnes exposées dans les bâtiments humides et le rôle possible d'endotoxines a aussi été rapportée.

Les conclusions avancées par l'OMS dans son rapport concernent **les effets respiratoires liés à l'exposition aux environnements intérieurs humides**. Dans la présentation des conclusions de son expertise en 2004, l'IOM avait fait la distinction entre les effets liés à l'exposition aux environnements intérieurs humides et **les effets liés à la présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements intérieurs humides**. Par ailleurs, l'IOM s'est intéressé à tous les types d'effets, et non uniquement aux effets respiratoires. La démarche scientifique adoptée par le GT Moisissures dans le cadre de cette expertise consiste à s'intéresser à tous les types d'effets sanitaires liés à la présence spécifique de moisissures dans les environnements intérieurs, en excluant les études basées sur la seule appréhension de facteurs qualitatifs liés à l'humidité. Dans une perspective de comparaison des nouvelles données recensées depuis la publication de ces rapports (IOM, CSHPF et OMS), les conclusions basées sur l'analyse des données épidémiologiques de ces deux rapports sont résumées dans le Tableau 4 ci-après d'après la classification du niveau de preuve détaillée en Annexe 9.

Tableau 4 : Résumé des conclusions du rapport de l'IOM (2004) (à gauche) et celles du rapport de l'OMS (2009) (à droite)

Conclusions de l'IOM Présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements humides et survenue d'effets sanitaires	**Conclusions de l'OMS** Environnements humides et survenue d'effets respiratoires
Preuves suffisantes d'une relation de cause à effet	
Aucun résultat ne répond à cette définition	
Preuves suffisantes pour établir une association	
Symptômes des voies aériennes supérieures (maux de gorge, conjonctivite, rhinite allergique et symptômes d'irritation des voies nasales tels que congestion ou écoulements) **Exacerbation de l'asthme** (symptômes d'asthme chez les personnes asthmatiques sensibilisées) **Pneumopathie d'hypersensibilité** chez les personnes sensibles aux bactéries et moisissures des environnements intérieurs **Toux** **Respiration sifflante (sifflements)**	**Exacerbation de l'asthme** **Symptômes des voies aériennes supérieures** **Toux** **Respiration sifflante** ***Développement de l'asthme*** ***Dyspnée*** **Asthme actuel** **Infections respiratoires**
Preuves limitées suggérant une association	
Pathologies des voies respiratoires inférieures chez les enfants en bonne santé	**Bronchites** **Rhinites allergiques**
Preuves inadéquates ou insuffisantes pour établir une association	
Dyspnée (difficulté à respirer) **Obstruction des voies respiratoires** (chez des individus en bonne santé) **Syndrome d'irritation des muqueuses** **Broncho-pneumopathie chronique obstructive** **Fièvres d'inhalation** (expositions non professionnelles) **Pathologies des voies respiratoires inférieures** chez les adultes en bonne santé **Troubles rhumatologiques et autres maladies du système immunitaire** **Hémorragie pulmonaire idiopathique aiguë chez les nourrissons (hémosidérose)** **Symptômes d'irritation cutanée** Développement de l'asthme **Troubles gastro-intestinaux** **Fatigue** **Symptômes neuropsychiatriques** **Cancer** **Effets sur la reproduction**	**Altération de la fonction pulmonaire** **Allergie ou atopie** **Asthme vie**

En italique apparait les effets pour lesquels une mise à jour des conclusions ressort de l'analyse des données de l'OMS par rapport à l'IOM

- ***Données toxicologiques chez l'Homme et l'animal***

Dans son rapport de 2009, l'OMS s'est intéressée aux *aspects cliniques des effets sanitaires liés aux moisissures des environnements intérieurs.* L'OMS a réalisé un focus sur les études impliquant des volontaires humains ou des animaux de laboratoire exposés en conditions contrôlées, en conditions professionnelles et cliniques. La plupart des études recensées sont basées sur des petits groupes d'individus, mais l'exposition ainsi que les manifestations cliniques sont mieux caractérisées que dans les études épidémiologiques.

Les **β-glucanes** sont des composants de la membrane cellulaire des moisissures. Ils sont également présents dans certaines bactéries et certaines plantes. De nombreuses études indiquent que les β-glucanes ont un effet important sur le système immunitaire humain. Les études sur les effets de ces composants sont centrées sur les voies orale et intraveineuse, et peu d'entre elles concernent l'exposition humaine aux β-glucanes d'origine fongique. L'exposition par inhalation aux β-glucanes d'origine fongique semble susceptible d'entrainer chez l'Homme et chez l'animal une irritation des membranes muqueuses oculaires et des voies respiratoires et conduire à une inflammation *via* la réponse immunitaire. Les réponses immunitaires « anormales » déclenchées par ces composés fongiques consistent en une augmentation de la production des médiateurs de la réponse inflammatoire : cytokines (CK) pro-inflammatoires (TNF-alpha, IL-6…), espèces réactives de l'oxygène, oxyde nitrique (NO) *via* l'induction de l'oxyde synthétase.

Les **mycotoxines**, métabolites secondaires produits par les moisissures, peuvent induire un large éventail d'effets néfastes sur la santé humaine, souvent à de faibles concentrations. Toutefois, il ressort des études que le niveau de preuve des effets sur la santé liés aux mycotoxines dans les environnements intérieurs est très faible. Si la toxicité des mycotoxines absorbées par voie digestive est connue, leur toxicité par voie inhalée est controversée, notamment à propos de *Stachybotrys chartarum* (espèce productrice des mycotoxines du groupe des trichotécènes, suspectées d'être à l'origine d'une épidémie d'hémorragie pulmonaire aiguë, survenue dans un cluster de 10 nourrissons à l'Hôpital pour enfants de Cleveland en 1993-1994). Dans les environnements intérieurs, *Alternaria, Aspergillus, Chaetomium, Cladosporium, Fusarium, Memnoniella, Penicillium, Stachybotrys* et *Trichoderma* ont été identifiés comme pouvant produire de nombreuses mycotoxines. Parmi les mycotoxines identifiées, les mieux connues sont les familles des aflatoxines, des ochratoxines et des trichotécènes. Des effets hépatotoxiques, neurotoxiques, mutagènes, tératogènes et cancérigènes ont été mis en évidence chez l'animal par voie digestive et même respiratoire. Des études ont démontré que la majorité des mycotoxines avait des effets cytotoxiques dont certains seraient susceptibles d'induire une modulation/inhibition de la réponse immunitaire. Certaines mycotoxines peuvent bloquer la production de surfactant ou détruire les macrophages au niveau pulmonaire, d'autres attaquent l'intégrité de la structure de l'épithélium pulmonaire permettant à la moisissure de coloniser les cavités alvéolaires. Ces différents modes d'action ont des effets délétères sur les voies respiratoires et pourraient mener à l'exacerbation de l'asthme, à des infections fongiques (chez les personnes immunodéprimées), ou encore à des infections secondaires, en partie dues aux effets immunosuppresseurs des mycotoxines. De plus, les mycotoxines pourraient occasionner des effets systémiques plus généraux (effet sur la tension artérielle et le rythme cardiaque).

La contamination des surfaces par les moisissures dans les environnements intérieurs associée à l'existence d'une absorption cutanée chez l'Homme, suggère que les surfaces intérieures présentant des contaminations importantes peuvent constituer une voie d'exposition aux mycotoxines pour les occupants d'un logement qui seraient en contact avec cette surface. Les trichothécènes simples et macrocycliques sont irritants pour la peau humaine et animale. Ils peuvent causer des rougeurs de la peau, voire des œdèmes des tissus cutanés. Les trichothécènes de *S. chartarum* ont été incriminés dans l'apparition de lésions cutanées douloureuses sur les mains, les aisselles et les parties génitales chez des travailleurs manipulant sans protection cutanée du matériel contaminé.

L'OMS conclut **qu'il existe des preuves cliniques que l'exposition aux moisissures et à d'autres agents microbiens associés aux environnements intérieurs humides augmente les risques de certaines maladies rares, comme la pneumopathie d'hypersensibilité** encore appelée alvéolite allergique extrinsèque, la rhinosinusite chronique et la sinusite fongique allergique. Elle ajoute que **les personnes atopiques ou atteintes de maladie atopique constituent des groupes particulièrement sensibles aux agents biologiques et chimiques dans les environnements intérieurs humides. Des effets néfastes sur la santé ont également été observés chez les individus non atopiques**. La prévalence croissante de l'asthme et des maladies atopiques dans de nombreux pays augmente le nombre de personnes sensibles aux effets de l'humidité et de moisissures dans les bâtiments.

- ***Données mécanistiques chez l'animal***

L'OMS en 2009 a réalisé une brève revue *des études toxicologiques chez l'animal* relatives à l'exposition aux micro-organismes dans les environnements intérieurs humides, principalement basée sur des études publiées entre 2000 et la mi-2007 incluant quelques références antérieures, notamment le rapport de l'IOM (2004). Les données examinées proviennent d'études *in vitro* et d'études *in vivo* chez l'animal. Bien que l'extrapolation directe à l'Homme des résultats issus des données expérimentales ne soit pas possible, ces études fournissent des informations importantes sur les mécanismes toxicologiques possibles à l'origine des effets sur la santé observés chez les individus exposés aux environnements intérieurs humides. Les données toxicologiques disponibles ont été analysées dans l'objectif de discuter de la plausibilité biologique d'une possible association causale observée d'après l'analyse des données épidémiologiques et cliniques.

Les mécanismes par lesquels les expositions fongiques non-infectieuses contribuent à l'apparition des effets néfastes sur la santé en lien avec l'humidité de l'air intérieur et la présence de moisissures sont largement méconnus. La revue de l'OMS s'est focalisée sur la capacité des expositions microbiennes associées aux environnements intérieurs humides à induire une activation des mécanismes toxicologiques potentiels suivants : immunostimulation et allergies, auto-immunité, cytotoxicité et immunosuppression, neurotoxicité, génotoxicité, toxicité pour la reproduction et irritation. Des données toxicologiques sur le rôle des interactions microbiennes ont également été incluses.

Les études *in vitro* et *in vivo* ont mis en évidence des réponses inflammatoires, cytotoxiques et immunosuppressives suivant une exposition aux spores, métabolites et composants des espèces microbiennes présentes dans les environnements intérieurs humides, permettant de conforter la plausibilité des résultats épidémiologiques. La plupart des données toxicologiques pertinentes provenant d'études chez les animaux concernent les effets immunotoxiques des moisissures, en particulier l'espèce *S. chartarum* et ses toxines. Dans l'interprétation des résultats des études chez l'animal en vue d'une transposition aux expositions humaines, il est important de tenir compte du fait que les niveaux d'exposition mis en œuvre dans les études expérimentales sont bien supérieurs (plusieurs ordres de grandeur) à ceux mesurés dans les environnements intérieurs.

L'OMS souligne que l'existence d'interactions synergiques entre les agents microbiens présents dans les environnements intérieurs humides (bactéries, moisissures…) suggère que les effets pathogènes des souches fongiques et bactériennes usuellement présentes dans les environnements intérieurs peuvent être potentialisés lors d'une exposition concomitante, conduisant, par exemple, à une augmentation des effets cytotoxiques et inflammatoires.

4.3 Données chez l'Homme

4.3.1 Revue des études épidémiologiques : objectif et méthode mise en œuvre dans l'expertise

Les publications ont été classées en études épidémiologiques longitudinales, études transversales, études de cas, étude cas-témoins nichées dans une cohorte, études de panel et revues (méta-analyses, revues systématiques, avis d'expert).

Les études épidémiologiques longitudinales, les études cas-témoins nichées dans les cohortes, les études de panel et les méta-analyses ont été étudiées en priorité pour la rédaction de ce chapitre. Toutes ces études s'inscrivent dans un cadre prospectif.

Les études longitudinales ou études de cohorte permettent d'étudier les associations entre des expositions d'intérêt et la survenue d'évènements de santé chez des individus indemnes de la pathologie recherchée au moment du recrutement dans les études. Les expositions d'intérêt sont estimées ou mesurées au moment de l'inclusion et peuvent être actualisées au cours du suivi. Les études longitudinales ne doivent pas être confondues avec les études transversales qui étudient les associations entre les expositions et les évènements de santé recueillis au même moment. Les études longitudinales permettent donc de suivre une population définie au long cours, et de maitriser un certain nombre de biais inhérents aux études transversales. Elles apportent des arguments en faveur d'une relation causale entre les expositions et les évènements de santé, la relation causale étant avérée lorsque la temporalité (présente dans les études longitudinales), la force de l'association, sa spécificité, sa constance, un gradient et une plausibilité biologique sont observées. Les études longitudinales ou études de cohortes sont essentiellement réservées à l'analyse de maladies assez fréquentes comme le sont l'asthme et la rhinite. Elles recouvrent aussi les études dites cas/témoins nichées dans une cohorte. Les cas incidents ou nouveaux cas et les témoins sont alors issus de la même cohorte. Ces études permettent de travailler sur un nombre souvent plus conséquent d'individus.

Les études de panel portent sur un temps de suivi court, généralement de l'ordre de quelques semaines à quelques mois. Ces études suivent régulièrement le plus souvent un sous-groupe sensible de la population comme des enfants, des personnes souffrant d'asthme ou des personnes âgées. L'exposition et l'état de santé des individus sont évalués à intervalles réguliers, jours ou semaines le plus souvent, et de façon concomitante. Dans une étude de panel, les variations temporelles des niveaux d'exposition et l'incidence des effets à court terme potentiellement associés à ces expositions sont étudiées. Les données concernant la survenue des symptômes et l'état de santé sont recueillies au niveau individuel dans un «journal de bord».

Les revues systématiques et les méta-analyses consistent à synthétiser les résultats de plusieurs études, les méta-analyses permettant d'obtenir une estimation plus précise et fiable de l'effet du facteur considéré sur l'évènement de santé étudié. L'unité d'analyse n'est donc plus l'individu, mais l'étude. Cette approche peut permettre de discuter la cohérence des résultats entre les études. C'est une forme standardisée de synthèse de la littérature scientifique sur un sujet, qui est plus formalisée que la simple revue de la littérature.

L'analyse des études épidémiologiques réalisée dans le cadre de cette expertise porte sur la ***relation entre l'exposition aux moisissures dans l'environnement intérieur et les effets sur la santé*** afin notamment d'étayer le niveau de preuve au regard de la littérature scientifique mais aussi l'existence d'un seuil protégeant des effets sur la santé ou l'identification des espèces impliquées.

Environ 400 publications ont été analysées en texte intégral (Etape 3 - Figure 1 du chapitre 2.3) à partir d'une grille simplifiée destinée à décrire le type d'étude, la population ciblée, la pathologie et une éventuelle mesure des moisissures (cf. Annexe 10).

Il ressort de l'analyse que plus d'une centaine de revues de la littérature incluant une diversité de publications (commentaires d'auteurs, revues systématiques ou non, méta-analyses) ainsi qu'une majorité d'études transversales ont été publiées sur les effets des moisissures intérieures. Les effets respiratoires sont principalement étudiés à travers ces différents types d'études. L'exposition aux moisissures repose à la fois sur un recueil par questionnaire ou l'observation par inspection de la présence de moisissures dans le lieu investigué et/ou sur la mesure de spores fongiques ou autres composants fongiques dans différents types d'échantillons tels que l'air, les poussières, ou les matelas.

Les publications à inclure pour l'analyse critique (Etape 4 - Figure 1 du chapitre 2.3) ont été sélectionnées en hiérarchisant les études en fonction de leur design. Les méta-analyses et revues systématiques ainsi que les études longitudinales, les études de cas incidents et prospectives ont été privilégiées au regard des nombreuses études transversales publiées dans ce domaine car elles apportent un niveau de preuve plus fort. Six méta-analyses, 3 revues systématiques et 47 études longitudinales, cas incidents et prospectives ont été identifiées.

Dans les parties relatives à la relation dose-réponse, l'ensemble des études publiées depuis 2006 s'intéressant plus particulièrement aux ***expositions quantitatives aux moisissures*** et l'apparition d'effets sur la santé ont été recherchées en intégrant les données issues d'études transversales et cas-témoins. L'objectif est de discuter de la définition d'un éventuel seuil sanitaire sur la base des données publiées depuis 2006. En effet, les travaux antérieurs avaient conclu à l'impossibilité de définir un seuil en dessous duquel il n'y aurait aucun effet sur la santé en l'absence de relation dose-réponse (CSHPF, 2006), ni à la proposition de niveau acceptable de contamination par des micro-organismes (OMS, 2009) étant donné qu'il n'est pas possible de quantifier précisément la relation entre l'exposition microbienne et les effets sur la santé.

L'analyse des publications a permis de relever l'étude d'autres pathologies telles que des dermatites atopiques, des effets oculaires (*fungal corneal ulcers*), des cancers, des troubles coronariens, un dysfonctionnement des cordes vocales, une obstruction des voies aériennes et des décès (Annexe 11). Le faible nombre de références documentant ces pathologies ne permet pas de conclure sur ces effets, et ces données ne sont donc pas développées dans le cadre de la présente expertise.

4.3.2 Caractérisation de l'exposition fongique dans les études épidémiologiques

L'exposition de la population aux moisissures est appréhendée dans les études épidémiologiques de façon très diverse et inclut notamment l'observation visuelle d'indicateur d'humidité comme les dégâts des eaux et la mesure de niveaux fongiques et d'identification d'espèces ou genres fongiques reposant sur des analyses de biologie moléculaire. Ces deux exemples illustrent la proposition faite dans le cadre de la présente expertise de distinguer les deux approches suivantes :

- Caractérisation de l'exposition quantitative : ce type d'exposition fait intervenir une phase d'analyse en laboratoire d'échantillons pour l'expression du résultat. Une très grande diversité de méthodes mises en œuvre pour caractériser l'exposition aux moisissures ressort de l'analyse des données épidémiologiques et ont été décrites dans le chapitre 3.2**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**.
- Par opposition à la catégorie précédente « Caractérisation de l'exposition qualitative »: ce type d'exposition ne nécessite pas de délai pour l'expression du résultat (en d'autre termes elle ne nécessite pas d'interface de laboratoire). Il englobe les observations visuelles de développement de moisissures rapportées par questionnaire que ce soit par les participants ou par inspection d'une personne qualifiée, mais aussi l'estimation de l'étendue d'une contamination comme la surface moisie d'une pièce ou la perception d'odeur de moisi.

Les mêmes termes ont aussi été employés dans la revue de Mendell *et al.* (2011) couvrant les publications jusqu'en 2009. Celle-ci met en avant le nombre important de publications reposant sur

des expositions qualitatives : 45 identifiées dans la revue de l'IOM (2004) et 103 nouvelles postérieures à la revue précédente. Les méta-analyses et autres revues systématiques présentées dans le présent rapport (cf. 4.3.3.1.1 et 4.3.3.2.1) soulignent aussi que les données pour lesquelles une synthèse systématique est possible correspondent principalement à des expositions qualitatives aux moisissures.

Au niveau des études prospectives retenues dans la présente expertise, couvrant la période 2006 à 2015, 12 études (correspondant à 14 publications) ont considéré une exposition qualitative, 10 études (correspondant à 11 publications) une exposition quantitative et enfin 5 études s'appuyant sur les 2 types d'exposition (correspondant à 8 publications).

4.3.2.1 Evaluation qualitative

Les études épidémiologiques analysées renseignent principalement la perception des occupants par le biais de réponses à des questionnaires. Les questions posées concernent essentiellement les conditions du lieu investigué (domicile, lieux de travail, ...) en rapport avec des problèmes généraux d'humidité : fuites, inondations, sous-sol humide, condensation sur les fenêtres. Des mesures d'humidité de l'air ou dans les matériaux n'ont pas été mises en œuvre dans les études retenues dans cette expertise.

Plus spécifiquement sur les moisissures, il peut s'agir de questions sur le développement ou la présence de moisissures actuels ou passés ainsi que l'odeur de moisi (sur les 12 derniers mois étant souvent repris car basé sur le format du questionnaire de l'étude ISAAC - International Study of Asthma and Allergies in Childhood). Dans quelques études, l'étendue de surface peut être évaluée. Ce fut le cas de 2 études nord-américaines et 1 étude finlandaise retenues dans cette expertise :

- Dans la cohorte de naissance menée au Canada chez des enfants de l'Ile Prince Edward (Dales, 2006 ; 2010), la surface des zones avec moisissures visibles (en m²) a été mesurée selon un protocole standardisé par un ingénieur technicien qualifié. Cette évaluation a été réalisée dans chaque pièce, puis classée en fonction de l'intensité de contamination (<10%, 10–60%, >60%). La surface de moisissure dans chaque catégorie était ensuite multipliée par le milieu de l'intervalle (5%, 35%, et 80%). Les résultats de cette étude indiquent une faible contamination fongique en général des logements considérés (moyenne géométrique =1012 cm² (soit 0,1m²) ; SD=24.2) s'expliquant par la base de volontariat pour le recrutement des participants, et de parents ayant rempli des carnets journaliers de symptômes pendant 2 ans. Les résultats suggèrent que dans des logements relativement propres, il y a peu de risque d'effets respiratoires associés aux moisissures dans les 2 premières années de la vie.
- La cohorte nord-américaine de naissance Cincinatti childhood Allergy and Air Pollution Study (CCAAPS) ayant fait l'objet de 6 publications retenues dans cette expertise avec l'analyse des données sur 7 ans de suivi a intégré la visite d'une personne qualifiée et un questionnaire renseigné par les parents sous forme de check-list dans un souci d'homogénéité. Le questionnaire parental portait sur les caractéristiques du logement incluant l'histoire de dégât des eaux et de présence de moisissures visibles. La visite intégrait la présence de moisissures visibles ou de dégâts des eaux, la localisation par pièce, le type de surface, la couleur et l'intégrité de la surface et la superficie des zones avec moisissures visibles (en m²). Une classification à 3 niveaux a été proposée sur la base de ces différentes données :
    - Classe 0 : pas d'historique de dégâts des eaux, ni de moisissures visibles ou d'odeur de moisi ;
    - Classe 1 : au moins un de ces signes, mais une superficie au sein d'une pièce inférieure à 0,2 m² ;

  - Classe 2 : présence de moisissures visible (soit superficie au sein d'une pièce supérieure à 0,2 m² soit une superficie cumulée de moisissures et dégât des eaux supérieure à 0,2 m²) (Cho, 2006a). L'analyse des données sur l'étendue de contamination mettent en évidence une augmentation du risque d'asthme en lien avec une superficie supérieure à **0,2 m²** (Iossifova, 2007 ; 2009).

- Dans l'étude longitudinale menée sur 258 patients examinés entre 1995-2004 au Finnish Institute of Occupational Health (FIOH) pour suspicion de maladie professionnelle liée à l'exposition à l'humidité et aux moisissures sur le lieu de travail, l'évaluation de l'exposition est évaluée rétrospectivement à partir des données du dossier patient. Elles sont collectées par un chercheur en qualité d'air intérieur, et intègre la mesure de la surface moisie. Une classification à 4 niveaux est proposée :
  - « bas » : surface unique <0,5 m² dans l'espace de travail du patient, dommages limités <1 m² détectés dans l'environnement de travail du patient, à proximité de son espace ;
  - « intermédiaire » : nombre de zones limité et surface <1 m², concentrations aériennes totales <100 CFU.m^{-3} pour les champignons et <10 CFU.m^{-3} pour les actinobactéries (culture), pas de dominance des espèces fongiques hygrophiles dans les échantillons environnementaux ;
  - « élevé » : surface moisie >1 m² ou concentrations aériennes totales >100 CFU.m^{-3} pour les champignons ou >10 CFU.m^{-3} pour les actinobactéries, ou présence d'espèces fongiques hygrophiles dans les échantillons environnementaux ;
  - « données insuffisantes ».

  L'analyse des données met en évidence une association significative entre un niveau d'exposition « élevé » et la catégorie « asthme professionnel probable » ($p = 0,049$). Les auteurs concluent que cette association suggère la validité de la classification retenue (Karvala, 2010). A noter que cette approche, qui est la seule à utiliser l'association de la mesure de la surface moisie à des mesures quantitatives (prélèvements d'air), permet de prendre en compte l'exposition aérienne liée au développement de moisissures non visibles.

L'estimation de l'exposition réalisée à partir de réponses à un questionnaire dépend de la formulation des questions, du niveau de détail pouvant être renseigné et de la personne répondant.

Les sources d'erreur notamment le biais de recueil ont été étudiées dans le cas des études transversales. Les biais sont considérés plus fréquents pour les personnes présentant des symptômes allergiques plus avisés pour rapporter la présence de moisissures que les individus non allergiques (OMS, 2009). De même, le recueil concomitant des données de santé et environnementales posent la question de la surdéclaration dans le cas d'autoquestionnaire. C'est la raison pour laquelle des enquêtes ont été par la suite réalisées par des personnes qualifiées pour caractériser les expositions. Sur les douze études retenues dans cette expertise, huit études considèrent les réponses rapportées par les participants ou parents dans le cas des études chez l'enfant (Jaakkola, 2006 et 2010 ; Gunnbjörnsdottir, 2006 ; Hagmolen of Ten Have, 2007 ; Jedrychowski, 2011 ; Larsson, 2011 ; Hwang 2011 et 2012 ; Zhou, 2013), deux s'appuient sur les données issues d'enquêteur qualifié (Karvonen, 2009 ; Pekkanen, 2007) et deux ont couplé les deux approches sur un sous-échantillon pour valider les données rapportées (Sahlberg, 2009 ; 2010 ; Norbäck, 2011 ; 2013). La plupart de ces études discute le biais de surdéclaration. L'analyse longitudinale des études permet de relever dans certains cas les différences de données à l'inclusion et au suivi mais aussi entre les participants inclus et non inclus dans l'analyse longitudinale.

Les auteurs citent différentes études de validation des questionnaires et concluent qu'il est peu probable que les relations observées soient biaisées par une surdéclaration de la présence d'humidité ou de moisissures par les personnes symptomatiques notamment ceux ayant considérés les deux types de données (Sahlberg, 2009 ; 2010 ; Norbäck, 2011 ; 2013). L'existence

d'un biais de publication majeur ne semble pas ressortir de l'analyse de la littérature par les méta-analyses (Fisk, 2007).

4.3.2.2 Evaluation quantitative

Dans les études retenues dans la présente expertise, couvrant la période 2006 à 2015, des prélèvements ont été réalisés dans les poussières et/ou dans l'air (trois études dans les deux milieux, sept uniquement dans les poussières, six uniquement dans l'air).

Concernant la mesure dans les poussières, il peut s'agir de prélèvement des poussières déposées au sol ou de mobilier (canapé, matelas) après remise en suspension ou sans réalisation de ménage sur une période donnée à la demande des investigateurs. L'analyse réalisée à la suite de ces prélèvements diffère selon l'étude. L'analyse des genres ou espèces fongiques a été réalisé majoritairement par culture (Inal, 2007 ; Pongracic, 2010 ; Wu, 2010 ; Gent, 2012) se limitant aux moisissures cultivables. Deux études ont réalisé des analyses par biologie moléculaire (Zhang, 2011 ; Dannemiller, 2014a ; 2014b).

Dans les autres études, la quantification de substances issues de la dégradation des moisissures (β-glucanes, ergostérols) mais aussi la quantification des endotoxines, composant de la paroi des bactéries Gram négatif des endotoxines (lipopolysaccharides) et/ou polysaccharides extracellulaires (EPS) ont été réalisées (Douwes, 2006 ; Iossifova, 2007 et 2009 ; Tischer, 2011c ; Casas, 2013).

Dans l'air, sont principalement recherchés les genres ou espèces fongiques analysés par culture (Osborne, 2006 ; Inal, 2007 ; Bundy, 2009 ; Takigawa, 2009 ; Rosenbaum, 2010 ; Gent, 2012 ; Behbod, 2013 ; 2015). Dans l'étude de cohorte de naissance au Canada, l'ergostérol, les glucanes et les endotoxines ont été recherchés dans les échantillons d'air (Dales, 2006 ; 2010).

L'évaluation des concentrations en microorganismes dans l'environnement intérieur nécessite d'aborder les questions soulevées sur la stratégie de prélèvement, concernant le transport et la conservation des échantillons et leur analyse par rapport aux problématiques suivantes (non exhaustive) :

- Variabilité temporelle et spatiale pour définir le nombre et la durée des prélèvements ainsi que les lieux à investiguer ;
- Faibles concentrations : choix de conditions dégradées pour la réalisation de prélèvement comme des activités de remise en suspension ;
- Conservation au congélateur.

La méthode par culture étant largement utilisée dans les études épidémiologiques reposant sur des expositions quantitatives, une analyse particulière des données épidémiologiques et des données de contamination a été réalisée dans le cadre de cette expertise et sont détaillées en Annexe (Annexe 8.1 et Annexe 12). Globalement, l'impacteur Andersen est le plus utilisé et semble donner des concentrations plus élevées que les autres appareils.

Une association significative entre les concentrations de la flore totale (et pour certaines pour un ou plusieurs genres) et les symptômes mesurés a été mise en évidence dans trois des neuf études. Dans trois autres études, une association a été mise en évidence avec un ou plusieurs genres. Les trois études, pour lesquelles aucune association n'a été mise en évidence, ont utilisé un impacteur autre que l'appareil Andersen (Air Idéal, BioMérieux pour 2 études et MicroBio2 pour 1 étude), mais deux de ces trois études n'ont analysé que la flore totale.

4.3.3 Effets respiratoires

En premier lieu, les données issues des revues systématiques et des méta-analyses ont été décrites car elles synthétisent les résultats de plusieurs études. En effet, les méta-analyses permettent d'obtenir une estimation plus précise de l'effet du facteur considéré sur l'évènement de santé étudié. Elles ont été regroupées par pathologies.

Pour compléter ces données, l'analyse des données longitudinales a été réalisée ensuite en regroupant les études par type de population (Enfants/Adultes) mais aussi en distinguant les données issues d'expositions reposant sur le recueil de la présence de moisissures par questionnaire et celles mettant en œuvre une méthode de mesure pour la recherche de différents éléments fongiques : spores et autres composants de la paroi cellulaire du mycélium tels que les β-(1,3)-glucanes.

4.3.3.1 Asthme

L'asthme est une maladie respiratoire chronique. Il s'agit de la maladie chronique la plus fréquente chez l'enfant souvent associée à de l'allergie. Les données françaises disponibles sur la prévalence de l'asthme sont issues de la surveillance épidémiologique coordonnée par l'Institut de veille sanitaire. Chez l'enfant, la prévalence des sifflements dans les douze derniers mois est d'environ 10 % et la prévalence de l'asthme vie entière varie de 10 % à 16 % selon les données des enquêtes nationales de santé en milieu scolaire. Chez l'adulte, la prévalence est plus faible, sur la base des déclarations des personnes âgées de plus de 15 ans, la prévalence de l'asthme actuel est de 7,1% (Irdes, 2014) augmentant de 1% depuis la précédente enquête. Pour les sifflements, la prévalence au cours des douze derniers mois était de 12%.

Concernant les départements et régions d'outre-mer, Raherison (2006) soulignent le manque de données concernant la prévalence de l'asthme et sa sévérité. L'Observatoire régional de santé (ORS) de La Réunion (2011, 2012) corrobore à cette conclusion en soulignant qu'aucune estimation récente de prévalence d'asthme sur l'île de la Réunion n'existe en population générale chez les adultes.

Le faible nombre d'études sur les moisissures dans les DROM-COM n'est pas dû à une plus faible prévalence de ces pathologies comme l'indiquent les données sur l'asthme. En effet, toutes les études témoignent d'une prévalence de l'asthme chez l'enfant beaucoup plus élevée dans ces territoires qu'au niveau métropolitain. Delmas *et al.* (2011) rappellent que des enquêtes, conduites au début des années 2000 dans les départements et territoires d'outre-mer en utilisant une méthodologie similaire, ont montré des prévalences élevées de l'asthme. La prévalence cumulée de l'asthme était de 15,9 % en Guadeloupe (Mounouchy, 2009), de 17,3 % à la Martinique (Quénel, 2008) alors qu'elle était de 13,2 % pour la France métropolitaine selon les données de l'enquête conduite en 2003-2004 en classe de troisième dans le cadre du cycle triennal en milieu scolaire (Delmas, 2009). Sur l'île de la Réunion, dans le cadre de l'étude ISAAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood), la prévalence de l'asthme était de 19,1 % (Martignon, 2004). Enfin, les résultats de l'étude sur la santé et les consommations alimentaires en Martinique (ESCAL) ont montré que comparée aux résultats de l'enquête réalisée par l'Observatoire de la santé de la Martinique (OSM) en 1998, la prévalence cumulée de l'asthme chez les enfants âgés de 5 à 7 ans a fortement augmenté entre 1998 et 2004 à la Martinique.

Pour expliquer l'importance de l'asthme chez les enfants, le niveau élevé de l'humidité dans ces territoires est souvent évoqué, mais les causes étiologiques de l'asthme restent peu documentées dans les DROM-COM comme le soulignent Solet *et al.* (2006) dans un travail sur La Réunion.

Delmas *et al.* (2011) précisent que bien que les facteurs génétiques jouent un rôle majeur dans la survenue de l'asthme, il est peu probable qu'ils expliquent les variations géographiques de la prévalence de l'asthme en France (plus à l'ouest qu'à l'est) et les niveaux beaucoup plus élevés dans les DROM-COM qu'en métropole. Ces variations régionales persistent, selon ces auteurs, après prise en compte du sexe de l'enfant, de la structure de la famille et de la taille de la fratrie. Il paraît ainsi particulièrement important de mettre en place des études spécifiques visant à identifier les principaux déterminants de l'asthme, et en particulier ceux visant à définir le rôle des différents allergènes dans la survenue des crises d'asthme dans les DROM-COM où la prévalence de cette pathologie est souvent deux fois plus élevée qu'en métropole.

L'asthme d'origine professionnelle représente 15% des asthmes de l'adulte. C'est une maladie variable au cours du temps qui peut évoluer, disparaitre ou apparaître à certains moments de la vie. La maladie se manifeste par des crises qui sont caractérisées par une difficulté à respirer et

des sifflements. La fréquence des crises et leur intensité varient suivant les personnes. Ces crises surviennent plus fréquemment la nuit, entraînant des insomnies, de la fatigue pouvant aller jusqu'à des absences à l'école ou au travail.

L'asthme a été classé à l'échelle mondiale comme la 28ème cause de "disability-adjusted life years" (DALYS, somme des années de vie perdues en raison d'une mortalité prématurée et des années vécues avec une incapacité) parmi 291 maladies (Murray, 1997). C'est une maladie complexe, multifactorielle et hétérogène (Wenzel, 2012). Les causes de l'asthme ne sont pas toutes bien connues mais les facteurs génétiques et l'environnement jouent un rôle dans l'apparition et/ou l'aggravation de la maladie (Beasley, 2015).

4.3.3.1.1 Données issues des méta-analyses et revues systématiques

Les données relatives à l'association entre l'exposition aux moisissures dans les environnements intérieurs et le risque d'asthme ont été largement analysées ces dernières années et sont représentées par les 6 méta-analyses (Fisk, 2007 ; Antova, 2008 ; Tischer, 2011b ; Tischer, 2011c ; Quansah, 2012 ; Sharpe, 2015a) et les 3 revues systématiques (Kanchongkittiphon, 2015 ; Dick, 2014 ; Mendell, 2011) identifiées dans le cadre de cette revue de la littérature. Ces neuf études sont synthétisées dans le Tableau 5.

La surveillance épidémiologique de l'asthme s'appuie sur des indicateurs de santé intégrant les symptômes évocateurs d'asthme différentiés pour le suivi de l'enfant et de l'adulte[10].

Les articles de Fisk *et al.* (2007) et Mendell *et al.* (2011) reprennent les données expertisées respectivement dans le rapport de l'IOM en 2004 et celui de l'OMS en 2009 et confirment les conclusions de ces 2 rapports. Il faut souligner que la démarche suivie par l'OMS est basée sur celle de l'IOM notamment en termes de méthode de classification du niveau de preuve en se limitant aux effets respiratoires.

En 2007, Fisk *et al.* (2007) ont réalisé une méta-analyse regroupant toutes les études (transversales ou longitudinales) ayant porté sur différentes paramètres caractérisant l'incidence de l'asthme. L'exposition considérée regroupait la présence d'humidité ou de moisissures visibles, sans distinction plus précise. Le seul odds-ratio non significatif obtenu par méta-analyse portait sur la relation entre la présence d'humidité ou de moisissures visibles du logement et le développement d'asthme à partir des 4 études retenues (OR= 1,34 ; $CI_{95\%}$ [0,86-2,10]).

L'étude qualitative de Mendell (2011), couvrant les publications jusqu'en 2009 signale des nouvelles données de la littérature mais ne quantifie pas la force de la relation. Les auteurs concluent à un niveau de preuve suffisant pour l'existence d'une association avec la présence d'humidité ou de moisissures à l'intérieur du logement et un large éventail d'effets respiratoires dont le développement de l'asthme, l'exacerbation d'asthme, l'asthme actuel, l'asthme vie, les sifflements. Les données disponibles ne permettent toutefois pas de conclure à l'existence d'une relation causale. Les auteurs soulignent notamment l'impossibilité de préciser les expositions microbiennes impliquées causalement.

Les données des 12 études transversales réalisées dans le cadre du consortium PATY (Antova, 2008), réalisées chez l'enfant de 6 à 12 ans dans différentes régions du monde indiquent que la présence de moisissures visibles dans le logement était associée à une augmentation du risque de sifflements, avec un OR= 1,43 ($CI_{95\%}$ [1,36-1,49]), après ajustement sur de nombreux

---

[10] Sifflements, sifflements à l'effort, toux sèche nocturne, asthme vie ; traitement pour crise de sifflements ou d'asthme, asthme actuel (Sifflements dans les 12 derniers mois chez un enfant ayant déjà eu des crises d'asthme ou traitement pour crise de sifflements ou d'asthme au cours des 12 derniers mois), Sifflements avec essoufflement, Sifflements en dehors du rhume, Réveils avec gêne respiratoire, Réveils par crise d'essoufflement, Réveils par quinte de toux (site InVS : http://www.invs.sante.fr/ - Dossiers-thematiques/Maladies-chroniques-et-traumatismes/Asthme/Surveillance-epidemiologique-de-l-asthme-en-France)

facteurs socio-démographiques. Les résultats des différentes études étaient relativement homogènes (sur les 7 odds-ratios intégrés dans l'analyse, 5 ORs étaient supérieurs à 1 (3 significativement) ; un OR=1 ; et un OR<1 (non-significatif); p de test d'hétérogénéité p=0.20).

Des critères d'exposition plus spécifiques ont été utilisés dans la revue systématique réalisée par Tischer *et al.* qui couvre les articles publiés jusqu'en juillet 2010, chez les enfants uniquement (Tischer, 2011b). Les résultats de la méta-analyse indiquent que l'exposition aux « moisissures visibles » est associée à une augmentation du risque d'asthme et de sifflements chez l'enfant. La représentation des données selon un graphique en entonnoir (« funnel plot ») n'indique pas de biais de publication pour les sifflements et l'asthme contrairement à la rhinite allergique (cf. 4.3.3.2.1). Les données des études cas-témoins ne mettaient pas en évidence de relation avec l'exposition aux moisissures visibles, une tendance apparaissait pour les études ayant de grand effectif. Enfin, pour les études transversales, les auteurs notaient une meilleure cohérence des résultats pour l'asthme que pour la rhinite allergique.

Les données de 6 cohortes de naissances européennes dans le cadre du consortium ENRIECO, ont été analysées (Tischer, 2011c). Après prise en compte de différents facteurs de confusion potentiels, dont, le niveau d'éducation des parents comme proxi du statut socio-économique, l'exposition à des moisissures visibles et/ou à l'humidité dans les 2 premières années de vie, était associée à une augmentation du risque d'asthme notamment entre 0 et 2 ans (OR=1.39 ; $CI_{95\%}$ [1,09-1,28]). Les résultats étaient relativement homogènes sur les 6 cohortes, avec des ORa>1 pour les 6 cohortes, significatifs pour 3 des 6 cohortes. Cette étude représente la plus grande étude sur les relations entre l'exposition à des moisissures visibles et/ou à l'humidité dans l'enfance et le risque d'asthme et de rhinite allergique risque de symptômes allergiques, avec des données individuelles d'enfants suivis dans des cohortes de naissance. Le design prospectif de ces cohortes est particulièrement pertinent pour étudier la temporalité de la relation entre l'exposition aux moisissures et le développement des symptômes.

Les données de 16 études (cohortes de naissances, cas-témoins) considérant spécifiquement l'asthme nouvellement diagnostiquée, ressortant d'une revue de la littérature sur la période 1990 à mars 2012, ont été analysées (Quansah, 2012). L'analyse des sources d'hétérogénéité indique une légère différence en fonction des résultats des études de cohorte par rapport aux données des études cas-témoins et une différence substantielle par rapport au recueil des données d'exposition. Les auteurs soulignent que l'évaluation de l'exposition dans les études épidémiologiques est une source majeure de l'hétérogénéité de la méta-analyse. Cette méta-analyse conclut que l'exposition à des moisissures visibles et/ou à l'humidité, était associée au développement d'asthme. En s'intéressant aux différents indicateurs d'exposition, la relation est renforcée pour les moisissures visibles (OR=1.29 ; $CI_{95\%}$ [1,04-1,60]) et l'odeur de moisi OR=1.73 ; $CI_{95\%}$ [1,19-2.50]) par rapport aux indicateurs d'humidité.

Dans l'analyse narrative faite par Tischer *et al.* (2011b) selon le type d'études, les données provenant des cohortes de naissance n'indiquaient pas de résultats concordants sur l'association entre l'exposition aux moisissures visibles et l'asthme ni les sifflements. La seule étude sur le niveau d'exposition aux spores de moisissures montrait une augmentation du risque de sifflements pour certaines espèces (*Penicillum* – exposition ≥ 1000 et 120 - 1270 $CFU.m^{-3}$).

L'étude qualitative de Kanghonkittiphon *et al.* (2015), couvrant les publications des 13 dernières années, signale 6 études fournissant de nouvelles données sur la relation entre l'exposition aux moisissures et l'exacerbation de l'asthme. Les auteurs concluent à un niveau de preuve limité pour l'exposition intérieure à *Penicillium* et l'exacerbation d'asthme chez des enfants asthmatiques sensibilisés, de même pour la flore fongique totale.

La publication de Sharpe *et al.* (2015a) est la première à s'intéresser spécifiquement à l'identification et la quantification d'espèces fongiques dans la survenue d'asthme pour la population générale. Une méta-analyse a été réalisée sur la base de 7 publications sur le lien entre le rôle de la diversité fongique et l'exacerbation de l'asthme. Une analyse narrative a été réalisée à partir de 10 autres études non incluses dans la méta-analyse du fait de leur hétérogénéité

s'intéressant à l'augmentation des niveaux de concentrations dans les logements de personnes asthmatiques. Les auteurs discutent du niveau de preuve limité entre l'exposition à des niveaux de concentration fongiques et le risque d'asthme du fait, notamment, du peu de données longitudinales.

En résumé, l'analyse de ces 9 études permet de mettre en avant les points suivants :

- Amélioration des connaissances sur la *relation entre l'exposition qualitative aux moisissures dans les environnements intérieurs et le développement d'asthme*, notamment chez l'enfant, apportée par la méta-analyse de Quansah *et al.* (2012) et considérée avec un niveau de preuve suffisant dans les revues systématiques de Mendell *et al.* (2011) et de Dick *et al.* (2014), cette dernière s'étant focalisée sur la relation entre exposition précoce aux moisissures visibles en milieu intérieur et le développement d'asthme chez l'enfant avant l'âge de 9 ans. Antérieurement à ces données, l'IOM avait conclu à un niveau de preuve limité voire insuffisant pour le développement d'asthme en fonction de l'indicateur d'exposition. Les résultats de la méta-analyse des données prises en compte par l'IOM étaient convergents avec cette conclusion en 2007 (Fisk, 2007).
- Renforcement du niveau de preuve sur la *relation entre l'exposition à l'humidité ou moisissures présentes dans les environnements intérieurs et le risque d'exacerbation de l'asthme chez les personnes asthmatiques* : arguments forts sur la causalité de la relation pour l'exposition qualitative et l'exacerbation de l'asthme chez l'enfant (Mendell, 2011 ; Kanchongkittiphon, 2015) ; niveau de preuve suffisant chez l'adulte (Kanchongkittiphon, 2015). A noter que la revue de Kanchongkittiphon *et al.* (2015) distingue les données pour l'humidité et pour les moisissures ; les conclusions présentées concernent l'exposition à l'humidité ou agents associés.
- Publication de la première méta-analyse prenant en compte des données de mesures de spores fongiques pour la caractérisation de l'exposition (Sharpe, 2015a) et le risque d'exacerbation d'asthme basée sur 7 études. Cette analyse suggère que *l'exposition à des espèces fongiques – Aspergillus, Penicillium, Cladosporium, Alternaria, Ulocladium, Acrenonium, Aureobasidium, Epicoccum, Scopulariopsis, Trichoderma, Wallemia - peut présenter un risque pour la santé de personnes asthmatiques associé à une augmentation des concentrations dans leurs logements*. La relation est positive et significative avec une hétérogénéité modérée pour 6 des 9 modèles étudiés correspondant à l'exposition à des moisissures identifiées dont l'exposition aux 4 espèces couramment mesurées – *Aspergillus, Penicillium, Cladosporium* et *Alternaria* et à 2 d'entre elles prises individuellement (*Cladosporium* et *Alternaria*).

Les revues systématiques et narratives relatives aux données d'exposition aux spores fongiques mettent en évidence une relation devant être confirmée pour le risque d'asthme (Tischer, 2011b ; Mendell, 2011 ; Sharpe, 2015a).

Les estimations des OR issus des méta-analyses sont représentées dans la Figure 6 ci-dessous.

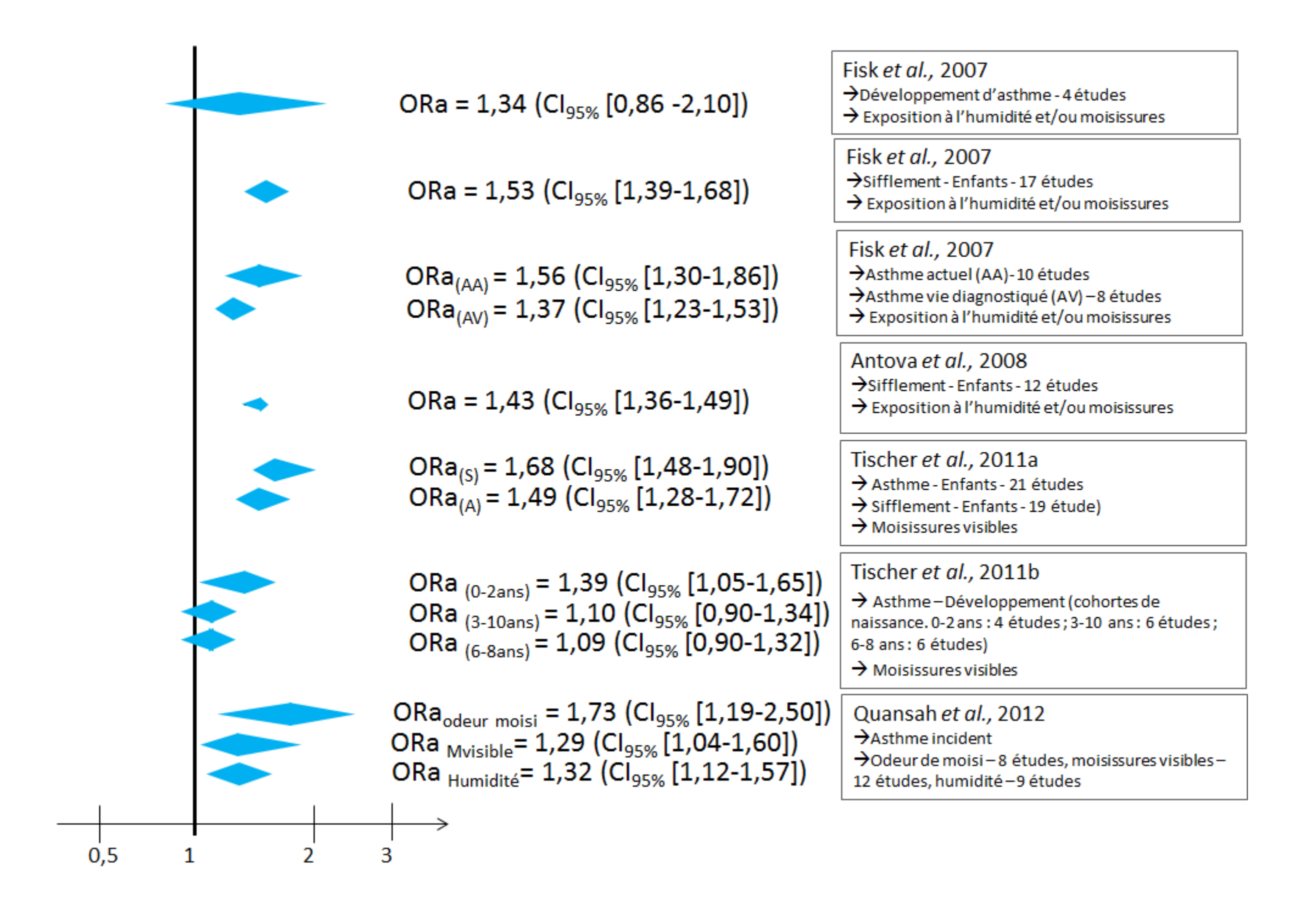


Figure 6 : Représentation de la relation entre l'exposition qualitative aux moisissures et/ou humidité intérieures et risque d'asthme issue des données des 7 méta-analyses identifiées

De plus, la complexité des données sur l'exposition quantitative est mise en exergue par les différentes méthodes de mesure des moisissures utilisées, et les différents composés recherchés : mesures de composants fongiques dans les poussières ou l'air que ce soit l'ergostérol, les 1,3-β-D-glucanes. Les endotoxines ne font pas partie des moisissures, mais sont des extraits bactériens qui font partie des facteurs de confusion. Cette complexité est illustrée par la

Figure 7 ci-dessous.

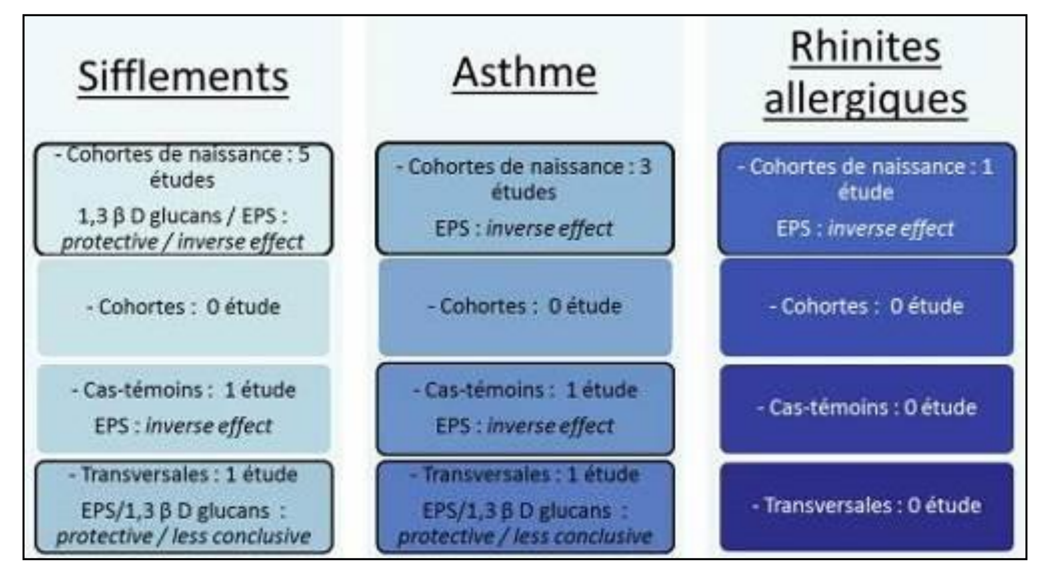


Figure 7 : Représentation de l'analyse narrative de Tischer *et al.* (2011c) des études épidémiologiques portant sur l'*association entre <u>exposition à des composants fongiques</u> et symptômes allergiques*

Tableau 5 : Synthèse des méta-analyses et revues systématiques portant sur l'association entre l'exposition aux moisissures et l'asthme ainsi que d'autres symptômes respiratoires

Référence	Type d'études clés/ Population	Mesures Moisissures	Résultats
Méta-analyses			
Fisk *et al.* (2007) *Indoor Air*	Identification de 33 études antérieures à 2006 incluant toutes les études analysées par l'IOM dans son rapport de 2004. Tout âge	Humidité visible et ou moisissures visibles ou odeur de moisi	- **Symptômes des voies respiratoires supérieures- 13 études :** **OR =1,7 ($CI_{95\%}$ [1,44-2,00])** - **Toux – 18 études :** **OR =1,67 ($CI_{95\%}$ [1,49-1,86])** - **Sifflements – 22 études :** **OR =1,50 ($CI_{95\%}$ [1,38-1,64])** - **Asthme actuel* – 10 études :** **OR =1,56 ($CI_{95\%}$ [1,30-1,86])** - **Asthme vie diagnostiqué – 8 études :** **OR =1,37 ($CI_{95\%}$ [1,23-1,53])** - Développement d'asthme – 4 études : OR =1,34 ($CI_{95\%}$ [0,86-2,10])
Antova *et al.* (2008) *Journal of Epidemiology and Community Health*	Analyse poolée des données de l'étude PATY (12 études transversales antérieures à 2006) Enfants de 6 12 ans.	Création d'une variable binaire "indoor mold" afin de couvrir l'hétérogénéité des expositions caractérisées dans ces études	- **Sifflements – 12 études :** **ORa =1,43 ($CI_{95\%}$ [1,36-1,49])** - **Toux nocturne– 10 études :** **ORa =1,30 ($CI_{95\%}$ [1,22-1,39])** - **Sensibilité aux allergènes inhalés – 11 études :** **ORa =1,33 ($CI_{95\%}$ [1,23-1,44])** - **Rhume des foins – 7 études :** **ORa =1,35 ($CI_{95\%}$ [1,18-1,53])** Hétérogénéité des données pour l'asthme, la bronchite, la toux du matin et le réveil dû à des sifflements avec une tendance à une association principalement positive
Tischer *et al.* (2011b) *Eur Respir J*	Données de 61 études Longitudinale, cas-témoins, transversale Enfants	Moisissures visibles	- **Asthme – 21 études :** **OR =1,49 ($CI_{95\%}$ [1,28-1,72])** - **Sifflements– 19 études :** **OR =1,68 ($CI_{95\%}$ [1,48-1,90])** - **Rhinites allergiques :** **OR =1,39 ($CI_{95\%}$ [1,28-1,51])**
Tischer *et al.* (2011c) *Allergy*	Données de 8 cohortes de naissance européennes	Moisissures visibles et /ou humidité dans les 2 premières années de vie	- **Asthme (0-2 ans) – 4 études :** **ORa =1,39 ($CI_{95\%}$ [1,05-1,65]) (p=0.0929)** - Asthme (6-8 ans) – 6 études : ORa =1,09 ($CI_{95\%}$ [0,90-1,32]) (p=0.196) - Asthme (3-10 ans) – 6 études : ORa =1,10 ($CI_{95\%}$ [0,90-1,34]) (p=0.0275)

Référence	Type d'études clés/ Population	Mesures Moisissures	Résultats
			- **Rhinite allergique (6-8 ans) – 6 études :** **ORa =1,12 (CI$_{95\%}$ [1,02-1,23]) (p=0.8362)** - **Rhinite allergique (3-10 ans) – 6 études :** **ORa =1,18 (CI$_{95\%}$ [1,09-1,28]) (p=0.3184)**
Quansah *et al.* (2012) *PLoS ONE*	Données sur 16 études longitudinales (cohorte et cas incidents-témoins) Tout âge	Moisissures visibles, dégâts des eaux, odeur et humidité	- **Toute exposition et développement d'asthme – 16 études :** **aOR =1,29 (IC95 : 1,50-1,80)** - Dégâts des eaux et développement d'asthme – 8 études : aOR =1,12 (IC95 : 0,98-1,27) - **Humidité et développement d'asthme – 9 études :** **ORa =1,32 (CI$_{95\%}$ [1,12-1,57])** - **Moisissures visibles et développement d'asthme – 12 études :** **ORa =1,29 (CI$_{95\%}$ [1,04-1,90])** - **Odeur de moisi et développement d'asthme – 8 études :** **ORa =1,73 (CI$_{95\%}$ [1,19-2,50])**
Sharpe *et al.* (2015a) *JACI*	Identification de 17 études (3/4) Longitudinale, cas-témoins, transversale Inclusion de 7 études cas-témoins, transversale (références 30 à 36), les 10 autres étant trop hétérogènes	Espèces fongiques	***Exacerbation d'asthme*** - Toute exposition **–** 3 études : ORa =0,86 (CI$_{95\%}$ [0,46-1,59]) (I^2[11]=1%) - **Moisissures identifiées et non identifiées – 7 études :** **ORa =1, 29 (CI$_{95\%}$ [1,02-1,62]) (I^2 =50%)** - **Moisissures dont non sporulantes – 7 études:** **ORa =1,34 (CI$_{95\%}$ [1,05-1,73]) (I^2=54%)** - **Moisissures sporulantes – 7 études :** **ORa =1,34 (CI$_{95\%}$ [1,04-1,73]) (I^2=64%)** - **4 espèces principalement recherchées – 5 études :** **ORa =1,36 (CI$_{95\%}$ [1,02-1,82]) (I^2=61%)** - *Aspergillus* – 5 études **:** ORa =0,98 (CI$_{95\%}$ [0,59-1,63]) (I^2=54%) - *Penicillium* – 5 études **:** ORa =1,19 (CI$_{95\%}$ [0,56-2,54]) (I^2=67%) - ***Cladosporium* – 6 études :** **ORa = 1,96 (CI$_{95\%}$ [1,13-3,41]) (I^2=66%)** - ***Alternaria* – 3 études :** **ORa =1,77 (CI$_{95\%}$ [1,22-2,56]) (I^2=0%)** Résultats pour les 2 dernières espèces sont portés par une seule étude (Salo *et al.,* 2006)

[11] Evaluation de l'hétérogénéité par le test statistique I^2 : faible pour I^2 compris entre 0 et 40%, élevé pour une valeur supérieure à 75% (Sharpe, 2015)

Référence	Type d'études clés/ Population	Mesures Moisissures	Résultats
Revues systématiques			
Mendell *et al.* (2011) *EHP*	Identification de 103 études épidémiologiques postérieures au rapport de 2004 de l'IOM. Interventionnelles, prospectives, rétrospectives, transversales Tout âge	Humidité ou moisissures visibles, dégâts des eaux, odeur de moisi Composants fongiques	• Pas de relation causale mais *arguments forts suggérant la causalité de la relation entre exposition à l'humidité ou moisissures et l'exacerbation de l'asthme*** • Niveau de preuve suffisant : Toux, Sifflement, symptômes respiratoires des voies supérieures, *développement de l'asthme, dyspnée, asthme actuel, asthme diagnostiqué, infection respiratoire, bronchite, rhinite allergique et eczéma*** • Niveau de preuve limité suggérant l'association : *Rhume ; allergie/atopie** ;* • Niveau de preuve insuffisant/inadapté : *Altération de la fonction pulmonaire***, pneumopathies d'hypersensibilité*** • Relation devant être confirmée (association suggérée) pour les expositions quantitatives reposant sur des mesures de composants fongiques dans les poussières : → Positive : Ergostérol (niveaux élevés) –et asthme actuel (3 études) Endotoxines (niveaux élevés) – et sifflements (14 études) 1,3 β d glucanes (niveaux médians) et sifflements (3 études) → Négative : 1,3 β d glucanes (niveaux élevés) et sifflements (4 études)
Kanchongkittiphon *et al.* (2015) *EHP*	Identification de 17 études sur les 69 articles épidémiologiques postérieures au rapport de 2000 de l'IOM sur l'asthme et exposition via l'air intérieur. Interventionnelles, prospectives, rétrospectives, transversales Tout âge	Spores fongiques Flore totale	***Exacerbation de l'asthme*** • Relation causale entre l'exposition aux spores fongiques extérieures cultivables chez des personnes asthmatiques sensibilisées aux moisissures • Niveau de preuve limité suggérant l'association : ○ exposition intérieure à Penicillium chez des enfants asthmatiques avec une sensibilisation particulière, toute sensibilisation aux moisissures, sensibilisation non spécifiée ○ exposition intérieure – flore fongique total chez des enfants avec toute sensibilisation aux moisissures (Table S7) Association causale entre humidité ou agents reliés à l'humidité chez l'enfant ; niveau de preuve suffisant pour l'association chez l'adulte (Table S8)
Tischer *et al.* (2011b) *Eur Respir J*	Données de 61 études Longitudinale, cas-témoins, transversale Enfants	composants des moisissures (glucanes, EPS, spores + espèces)	Analyse réalisée de 61 études en distinguant les données en fonction de la caractérisation de l'exposition et du design d'étude : Association entre exposition aux moisissures visibles et augmentation du risque d'asthme, sifflement et rhinite allergique confirmée par la méta-analyse. Mise en évidence de l'association entre exposition à des spores fongiques et le risque d'asthme et de sifflements chez les enfants en bas âge. Tendance inverse pour l'exposition aux composants fongiques 1,3 d-β glucanes et EPS et les symptômes allergiques.

Référence	Type d'études clés/ Population	Mesures Moisissures	Résultats
Dick *et al.* (2014) *BMJ Open*	Données issues de la revue systématique et de la méta-analyse de Tischer *et al.* (2011a et b) et de 4 études de cohorte (références 41 à 44) Enfants moins de 9 ans	logements humides ou moisissures visibles	Analyse d'études décrivant les associations entre des expositions dans l'enfance et l'asthme jusqu'à l'âge de 9 ans : L'exposition aux moisissures visibles était associée à un risque accru d'asthme (Tischer, 2011a). La méta-analyse de huit cohortes de naissance européennes a trouvé une association entre l'exposition aux moisissures visibles ou à l'humidité et une respiration sifflante augmentée à 2 ans, mais cette association n'était pas significative à 6-8 ans (Tischer, 2011b). Les études de cohortes ont trouvé que l'exposition aux moisissures tôt dans la vie était associée à un risque d'asthme augmenté à 3 ans (Iossifova, 2009), et à 7 ans pour la présence de moisissures (Jaakkola, 2005) ou pour une augmentation d'une unité d'indice de moisissures (Reponen, 2011 et 2012).
Sharpe *et al.* (2015a) *JACI*	Identification de 17 études (3/4) Longitudinale, cas-témoins, transversale Inclusion de 7 études (références 30 à 36), les 10 autres étant trop hétérogènes	Spores fongiques	Analyse réalisée de 10 études en distinguant les données en fonction de la caractérisation de l'exposition (cell equivalent CE/g et colony-forming unit CFU/m^3) 2 études longitudinales (cohorte de naissance à risque d'atopie) mettent en évidence l'association entre exposition à *Penicillium* et *Aspergillus* et sifflement (Gent, 2002) et développement d'asthme dans l'enfance (Reponen, 2012).

* L'« asthme actuel » est un indicateur d'asthme communément défini par la déclaration d'une crise d'asthme au cours des douze derniers mois et/ou par un traitement actuel pour l'asthme.
** *nouvelles conclusions par rapport à l'IOM 2004*
*** Association basée sur les données cliniques et non épidémiologiques

4.3.3.1.2 Données d'études longitudinales chez l'enfant

Association entre l'exposition qualitative aux moisissures et le développement de l'asthme chez l'enfant et l'adolescent

Les publications retenues s'intéressent à la relation entre humidité, moisissures visibles, dégât des eaux et odeur de moisi et problèmes respiratoires. Elles comprennent 2 types d'études : 5 études de cohorte de naissance d'enfants âgés de 1 à 5 ans au moment du diagnostic (Dales, 2010 ; Zhou, 2013 ; Karvonen, 2009 ; Schroer, 2009 ; Wen, 2015), et 3 études regroupant des études de cas d'asthme nouvellement diagnostiqués, des études sur l'asthme incident dans une cohorte, et des études cas-témoins nichées dans une cohorte chez des enfants de 6 à 7 ans (Pekkanen, 2007 ; Larsson, 2011 ; Hwang, 2011 ; Hwang, 2012).

Parmi les 5 études de cohorte de naissance, l'une s'intéresse aux symptômes aigus (nez bouché, toux, sifflements, et essoufflements) et ne met pas en évidence de relation avec les moisissures visibles (Dales, 2010). Les symptômes depuis la naissance jusqu'à l'âge de 2 ans ont été relevés dans un carnet journalier complété par un des parents. Le début d'un épisode aigu était défini comme le 1er de deux jours consécutifs avec l'un des 4 symptômes. La fin d'un épisode aigu était définie comme 2 jours consécutifs sans aucun de ces symptômes. Les caractéristiques de l'habitat associées aux épisodes respiratoires étaient une température basse intérieure, et un niveau plus élevé d'endotoxines. La surface de moisissure n'était pas associée au nombre moyen d'épisodes sur les 2 premières années de vie, ni au nombre d'épisodes cumulés considéré sur les 6, 12, 18 et 24 premiers mois. Il n'a pas été mis en évidence d'association en étudiant chaque symptôme séparément.

Trois autres études s'intéressent à la relation entre humidité, moisissures visibles et sifflements. Les sifflements respiratoires sont la manifestation la plus courante de l'asthme du nourrisson. Ces symptômes peuvent survenir chez les jeunes enfants de façon transitoire au cours d'épisodes infectieux (Herr ; 2011). Il est difficile de parler d'asthme avec certitude avant l'âge de 3 ans.

L'une s'intéresse aux caractéristiques du logement *rapportées par les parents* et ne met en évidence qu'une relation entre l'**humidité** et la survenue de sifflements (Zhou, 2013). Cette étude a porté plus largement sur les effets *in utero* du tabagisme passif et de la pollution de l'air. Les effets sur la santé ainsi que leur évolution ont été renseignés à la naissance, puis par téléphone 0-4 mois, 4-8 mois et 8-12 mois sur la base du questionnaire ISAAC, et un examen clinique a été réalisé à 12 mois. Les résultats de cette étude indiquent que les phénotypes d'asthme sont positivement associés au tabagisme parental lourd, à la pollution de l'air liée au trafic et à l'humidité dans les 12 derniers mois, et négativement associés à un contact avec des chats et au chauffage domestique au bois dans les 12 derniers mois (humidité et sifflements vie : ORa=2.12 ; $CI_{95\%}$ [1.30-3.46], asthme vie diagnostiqué ORa=2.19 ; $CI_{95\%}$ [1.06-4.53], les deux ORa=2.21 ; $CI_{95\%}$ [1.04-4.71]).

Les 2 autres études s'intéressent aux caractéristiques du logement **renseignées par un enquêteur** et mettent en évidence une relation entre **les moisissures visibles dans les pièces à vivre** et la survenue de sifflements (Karvonen, 2009 ; Schoer, 2009).

L'étude de Karvonen *et al.* (2009) s'appuie sur les symptômes respiratoires (toux, sifflement, otite et laryngite aigue), rhume avec fièvre (>38°C), diagnostics médicaux de bronchite obstructive ou asthmatique) renseignés par questionnaire par la mère à 2, 12 et 18 mois ; le premier recueil étant réalisé par interviews. Un prélèvement sanguin à 12 mois a été réalisé pour rechercher les IgE à 19 allergènes (dont *Alternaria alternata*) pour évaluer la sensibilisation atopique (IgE≥ 0.35 kU/L). Une association significative entre la **présence de moisissures dans le séjour ou dans la chambre de l'enfan**t et le diagnostic médical de sifflements à l'âge de 18 mois a été mise en évidence (aOR = 3.92 ; $CI_{95\%}$ [1.54-10] ; aOR = 5.22 ; $CI_{95\%}$ [1.48-18.35]).

Schoer *et al.* (2009) étudient la relation entre l'exposition aux moisissures visibles et la survenue de sifflements à 12, 24 mois et les sifflements persistants au même âge (rapportés par les parents

en réponse au questionnaire dérivé d'ISAAC). L'enfant était considéré comme exposé si lors de la visite le technicien observait des moisissures visibles, des dégâts des eaux, ou une odeur de moisi, la visite ayant généralement lieu dans les 12 premiers mois de la vie. L'exposition aux moisissures était associée significativement avec les sifflements à l'âge de 24 mois (OR=1.76, (1.09-2.85)) et sifflements persistants (OR=2.00 ; $CI_{95\%}$ [1.07-3.71]), mais pas avec les sifflements à l'âge de 12 mois même ajusté sur le mode de garde, la race, et le sexe (Sifflement à 12 mois OR=1.31 ; $CI_{95\%}$ [0.87-1.97], p=0.20 ; Sifflement à 24 mois OR=2.18 ; $CI_{95\%}$ [1.30-3.63], p<.01 ;Sifflement à 24 mois persistants OR=2.57 ; $CI_{95\%}$ [1.33-4.96], p=0.01)) et aussi après ajustement sur les autres facteurs d'exposition (Sifflement à 24 mois aOR=2.12 ; $CI_{95\%}$ [1.25-3.60] et sifflements persistants (aOR=2.47 ; $CI_{95\%}$ [1.27-4.80]).

Wen *et al.* (2015) se sont intéressés à l'association entre l'exposition aux moisissures visibles sur les murs ou aux travaux de rénovation/peintures durant la grossesse et la survenue d'asthme chez 19 192 couples mère-enfant représentatifs de la population taïwanaise. Les enfants ont été suivis par interview à domicile à l'âge de 6 mois, 18 mois, 3 et 5 ans. L'asthme a été défini par la réponse positive à la question « *Votre enfant a-t-il déjà eu un asthme diagnostiqué par un médecin ?* » à l'interview à 5 ans. La prévalence de l'asthme étant différente chez les filles (5.5%) et les garçons (7.6%), les analyses ont été réalisées séparément dans les deux groupes. La présence de moisissures visibles sur les murs et les travaux de rénovation/peintures pendant la grossesse étaient indépendamment et significativement associés à un risque accru de déclaration d'asthme à l'âge de 5 ans chez les filles, avant et après ajustement sur le niveau d'éducation de la mère, les antécédents de maladies allergiques des parents et de dermatite atopique à 6 mois chez l'enfant, et la dépression postpartum. Les associations n'étaient pas significatives chez les garçons mais les auteurs n'ont pas discuté les différences observées dans les résultats. Dans des modèles prédictifs, les deux facteurs environnementaux étaient d'importants prédicteurs de risque de l'asthme chez les filles âgées de 5 ans.

Dans les 3 autres études, l'asthme incident chez les enfants, déclaré ou mieux rapporté par le médecin, est associé soit à l'humidité rapportée par un enquêteur expérimenté (Pekkanen, 2007), soit aux moisissures visibles (Hwang, 2011 ; Hwang 2012), soit plus encore à l'odeur de moisi (Larsson, 2011 ; Hwang, 2011 ; Hwang, 2012). La relation est surtout notée dans les pièces à vivre. Enfin, cette relation est plus forte en cas de symptômes d'atopie de l'un des parents (Hwang, 2011).

Dans une étude cas-témoins chez l'enfant, les cas ayant un asthme récemment diagnostiqué (dont la première crise a eu lieu moins d'un an avant le recrutement) et les témoins issus de la population générale, Pekkanen *et al.* (2007) s'intéressent à l'association entre des problèmes liés à l'humidité et l'incidence de l'asthme en Finlande. La sévérité et la localisation des problèmes d'humidité ont été évaluées lors de visite à domicile par des ingénieurs expérimentés : fuite d'eau ou condensation, moisissures visibles, coloration des matériaux de construction. 5 classes d'exposition ont été construites pour la sévérité du problème d'humidité. Les informations portaient sur l'ensemble de la maison, à l'exception de la chambre de l'enfant qui était enregistrée séparément. La visite du logement a eu lieu après le diagnostic de l'asthme. Toutefois, l'inspection du logement reflète relativement bien l'historique de l'exposition de la maison dans les années précédentes. Il était demandé que les enfants recrutés aient vécu presque toute leur vie dans ce logement. Enfin, le développement des moisissures est relativement lent dans les climats froids. Aussi, le design de l'étude se rapproche de celui d'une étude longitudinale. L'analyse globale du logement montre que les cas ont tendance à avoir plus souvent des moisissures visibles (OR 1.24 ; $CI_{95\%}$ [0.73–2.11]; NS) ou une odeur de moisi ("légère" OR=1.35 ; $CI_{95\%}$ [0.42–4.36] ; "certaine" OR=4.12 ; $CI_{95\%}$ [0.65–26.01]). L'analyse a été distinguée en fonction des informations par pièces investiguées. Les indicateurs d''humidité (OR=2.24 (1.25–4.01)) et la **présence de moisissures visibles** (OR=2.59 ; $CI_{95\%}$ [1.15–5.85]) **dans les pièces de vie principale** étaient associées à une augmentation du risque d'asthme. Dans la chambre de l'enfant, la relation est aussi mise en évidence pour la présence d'un problème d'humidité par rapport à l'absence de problèmes (OR=1.97 ; $CI_{95\%}$ [1.00–3.90]). Les associations avec les problèmes d'humidité dans la pièce principale ou dans la chambre de l'enfant étaient similaires pour l'asthme atopique et

l'asthme non-atopique de l'enfant, et ne différaient pas en fonction de l'âge de l'enfant (<30 mois ou >30 mois). Par contre, pour les moisissures visibles, l'association était plus marquée pour l'asthme atopique (OR=4.74 ; $CI_{95\%}$ [0.94–24.01]) que pour l'asthme non-atopique (OR=1.08 ; $CI_{95\%}$ [0.32–3.64]). Dans les autres pièces considérées (cuisine; salle de bain, autres pièces intérieures), aucune association n'a été mise en évidence. En fonction de la sévérité de l'exposition reposant sur une classification en plusieurs niveaux des désordres d'humidité, l'association augmente (lorsque les désordres sont qualifiés de mineurs - OR=2.11 ; $CI_{95\%}$ [1.06–4.21]; de majeurs - OR=2.46 ; $CI_{95\%}$ [1.09–5.55]), et en considérant les différentes classes '1-2' - OR=2.75 ; $CI_{95\%}$ [1.40–5.40]; +2 - OR=4.04 ; $CI_{95\%}$ [1.60–10.20]).

Larsson *et al.* (2011) ont mené 2 analyses à partir des données de l'étude DBH (Dampness in Building and Health) menée en Suède : analyse transversale et longitudinale de l'association entre des problèmes liés à l'humidité et l'incidence de l'asthme. Ils considèrent les données à l'inclusion en 2000 et au suivi en 2005, correspondant respectivement au 1 an et 6 ans de l'enfant. L'exposition a été appréhendée par les réponses à un vaste questionnaire (84 questions) sur le bâtiment intégrant aussi des renseignements sur les revêtements de sols dans les chambres. Concernant plus spécifiquement l'exposition aux moisissures, un indice a été construit à partir des réponses aux questionnaires remplis en 2000: fuite d'eau (non, oui et oui dans 12 der mois), moisissures sur le sol (non, au moins une fois), humidité visible (oui/non), condensation sur les fenêtres (non, oui et 5 cm), odeur de moisissures (non, quelquefois, souvent), question spécifiques pour salle de bain, chambre, et autres pièces. En 2005, seules l'humidité visible et la condensation sur les fenêtres ont été renseignées. L'analyse transversale sur les données en 2000 puis 2005 met en évidence une association entre différents indicateurs d'exposition dont les moisissures visibles et l'asthme incident. Ces associations ne sont pas retrouvées dans l'analyse longitudinale considérant les données d'exposition à l'inclusion dans le domicile de naissance. Les auteurs discutent des désavantages des analyses transversales et leurs biais. Seule l'association entre la **perception d'odeur régulière de moisissures** et l'asthme nouvellement diagnostiqué ressort dans l'analyse transversale et longitudinale (OR=11.44 ; $CI_{95\%}$ [3.50-37.36]). Lorsque cette perception est occasionnelle, l'association n'est plus significative (OR=2.21 ; $CI_{95\%}$ [0.94-5.24]). Le risque est augmenté avec l'effet conjoint du revêtement PVC dans la chambre de l'enfant uniquement chez familles avec allergie.

L'étude de Hwang *et al.* (2011) s'est intéressée à l'incidence de l'asthme sur les 6 ans de suivi de l'étude, selon l'exposition rapportée à l'inclusion. 188 cas d'asthme nouvellement diagnostiqués entre 2002 et 2008 et 376 témoins (sans asthme, ni symptômes évocateurs d'asthme dans les 12 derniers mois) ont été appariés selon l'âge et le sexe. L'exposition a été caractérisée par les réponses à 3 questions sur la perception d'odeur de moisi dans les 12 derniers mois, la présence de moisissures visibles dans le dernier mois et un dégât des eaux (au cours des 12 derniers mois ou avant seulement). Il existait une association positive entre la présence de moisissures visibles et l'odeur de moisi (r=0.30). Les dégâts des eaux étaient associés avec l'odeur de moisi (r = 0.22) mais pas avec la présence de moisissures visibles. Deux analyses ont été menées sur ces données (Hwang 2011, Hwang 2012). La première publication se limite à l'incidence de l'asthme et aux allergies parentales et la seconde intègre les informations sur le polymorphisme génétique du promoteur de l'interleukine 4 (IL-4) ; 3 génotypes sont décrits : CT, CC, TT. Les résultats de ces 2 publications convergent sur l'augmentation du risque d'asthme chez les enfants exposés (pour l'ensemble des indicateurs d'exposition à l'exception des dégâts des eaux : ORa= 1.69 ; $CI_{95\%}$ [1.67–2.45] (Hwang, 2011) et ORa= 1.43 ; $CI_{95\%}$ [1.01–2.13] (Hwang, 2012), odeur de moisi ORa= 2.09 ; $CI_{95\%}$ [1.30–3.37] (Hwang, 2011) et ORa=1.61 ; $CI_{95\%}$ [1.02–2.68], moisissures visibles : ORa= 1.76 ; $CI_{95\%}$ [1.18–2.62] (Hwang, 2011) et ORa=1.50 $CI_{95\%}$ [1.01–2.31] (Hwang, 2012).

Le risque d'asthme est augmenté avec l'effet conjoint de **la présence de moisissures visibles et de l'atopie parentale** (Hwang, 2011). De même, le risque d'asthme chez les enfants exposés aux moisissures visibles ou chez les enfants vivant dans un logement avec une odeur de moisi était augmenté chez les enfants porteurs du génotype à risque pour le promoteur d'IL-4 (Hwang, 2012), les OR augmentant de 1.3 à 2.0 avec une interaction génotype-exposition significative ($p<0.05$). Par rapport aux enfants ayant le génotype TT non exposés, l'augmentation du risque associé à la

présence de moisissures visibles, passait de OR=1.35 ; $CI_{95\%}$ [0.82–2.22] chez les enfants TT, à OR=2.14 ; $CI_{95\%}$ [1.05–4.34], chez les CT, (p pour l'interaction entre le promoteur de l'IL-4 et les moisissures visibles =0.03). Il n'y avait pas de relation entre le génotype du promoteur de l'IL-4 et le risque d'asthme. Pour les logements avec une odeur de moisi, l'OR ajusté passait de OR_{01}=1.46 ; $CI_{95\%}$ [0.83–2.59] chez les TT, à OR_{11}=1.99 ; $CI_{95\%}$ [1.03–4.41] chez les CC+CT (p d'interaction =0.04)

La relation gène-environnement a été étudiée dans 2 publications (Schoer, 2009 ; Hwang, 2012). Il s'agit d'une relation intéressante, mais peu de données sont disponibles pour pouvoir conclure.

En conclusion les effets de l'exposition aux moisissures sur la santé respiratoire sont démontrés essentiellement pour l'asthme de l'enfant. Les études indiquent que la présence observée de moisissures dans les pièces à vivre et odeur de moisi, étudiée conjointement ou non avec l'humidité, est associée au développement de l'asthme chez le jeune enfant (étude de cohorte de naissance, asthme incident, méta-analyses). Cette relation est plus élevée chez l'enfant dont l'un des parents a des symptômes d'atopie.

Tableau 6 : Synthèse des données des études longitudinales ayant analysé l'association entre l'exposition qualitative aux moisissures et le développement de l'asthme chez l'enfant et l'adolescent

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Etude de cohorte				
Dales *et al.* (2010) *Env Research*	Cohorte de naissance Canada N=330 Enfants	Moisissures visibles **renseignées par un enquêteur** Inspection - 1ère année de vie	Nombre d'épisodes respiratoires **aigus** Nez bouché, toux, sifflements, dyspnée Carnet journalier complété par l'un des parents Naissance à 2 ans	Surface de moisissures visibles : NS Pas de groupes plus sensibles
Zhou *et al.* (2013) *BMC Public Health*	Cohorte de naissance Mère-enfant recrutés pendant la grossesse (Etude EDEN) France N=1765 Enfants	Moisissures visibles et humidité **rapportées.** Questionnaire sur les 12 derniers mois à la naissance sur la 1ère année de vie	Symptômes respiratoires de 0-4 mois, 4-8 mois et 8-12 mois Questionnaires ISAAC à la naissance, puis par téléphone et examen clinique à 12 mois	**Humidité rapportée** et asthme diagnostiqué + **sifflement** : ORa =2.21 ; $CI_{95\%}$ [1.04-4.71] **Humidité** et **sifflement** : ORa =2.12 ; $CI_{95\%}$ [1.30,-3,46] **Humidité** et **asthme vie diagnostiqué** : ORa=2.19 ; $CI_{95\%}$ [1.06 -4.53] Moisissures **rapportées** et asthme : **NS**
Karvonen *et al.* (2009) *Pediatrics*	Cohorte de naissance Finlande (zone rurale avec fermiers) N=396 Enfants	Problème d'humidité renseigné par un enquêteur Moisissures visibles **renseignées par un enquêteur** Inspection avant les 6 mois de l'enfant	Sympt resp (toux, sifflement, otite et laryngite aigue) rhume avec fièvre (>38°C), diagnostics médicaux de bronchite obstructive ou asthmatique Questionnaire renseigné par la mère à **2,12 et 18 mois**	<u>Pièce principale uniquement</u> Moisissures **visibles** et **Sifflement diagnostiqué** : ORa = 3.92 ; $CI_{95\%}$ [1.54-10] <u>Chambre enfant</u> Moisissures **visibles** et **Sifflement diagnostiqué** : ORa = 5.22 ; $CI_{95\%}$ [1.48-18.35]
Schroer *et al.* (2009) *J Pediatrics*	Cohorte de naissance à risque (au moins 1 parent avec 1 test cutané positif (SPT +)) (Etude Cincinnati Childhood Allergy and Air Pollution Study CCAPS) Etats-Unis N=570 Enfants de la naissance à 2 ans	Moisissures visibles, dégâts des eaux, odeur de moisi **renseignés par un enquêteur** Inspection 1ère année de vie	Sifflement Sifflement persistant à 1 et 2 ans Questionnaire dérivé d'ISAAC renseigné par les parents 12 et **24 mois**	à 12 mois : NS **A 24 mois :** **Sans ajustement avec les autres facteurs d'exposition** **Moisissures visibles** et **sifflement** : OR=1,76 ; $CI_{95\%}$ [1.25-3.60] **Moisissures visibles diagnostiquées** et **sifflement persistant** : OR=2.00 ; $CI_{95\%}$ [1.07-3.71] **Avec ajustement** sur le mode de garde, la race, et le sexe **Moisissures visibles** et **sifflement** : OR=2.18 ; $CI_{95\%}$ [1.30-3.63], p<.01 **Moisissures visibles** et **sifflement persistant** :

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Etude de cohorte				
				OR=2.57 ; $CI_{95\%}$ [1.33-4.96], p=0.01) **Avec ajustement avec les autres facteurs d'exposition** **Moisissures visibles** et **sifflement** : ORa=2.12 ; $CI_{95\%}$ [1.25-3.60] **Moisissures visibles** et **sifflement persistant** : ORa=2.47 ; $CI_{95\%}$ [1.27-4.80]
Wen *et al.* (2015) Pediatric Allergy and Immunology	Taiwan Birth Cohort Study N=19 192 88 aires géographiques Enfants de la naissance à 5 ans	Pendant la grossesse : Moisissures visibles sur les murs, travaux de rénovation/peinture dans la maison **rapportés** Interview à domicile et questionnaires à 6 et 18 mois, 3 et 5 ans	Déclaration d'asthme diagnostiqué par un médecin Question posée à l'interview à 5 ans	**Filles** : **Moisissures visibles sur les murs** : **OR=1.21 ; $CI_{95\%}$ [1.01-1.46)]** **Travaux de rénovation/peintures : OR=1.63 ; $CI_{95\%}$ [1.15-2.25]** Aucune association significative chez les garçons OR=1.18 ; $CI_{95\%}$ [0.85-1.60] et OR=1.01 ; $CI_{95\%}$ [0.87-1.18]
Autres études d'asthme incident				
Pekkanen *et al.* (2007) *Eur RespirJ*	Etude **cas incident-témoin** Finlande N= 121/242 Enfants de **1 à 7 ans** ayant vécu presque toute leur vie dans le logement	Problème d'humidité renseignés par un enquêteur Moisissures visibles **renseignées par un enquêteur** Inspection - visite après recrutement	**Asthme incident** Cas recrutés après diagnostic dans le service pédiatrique de l'hôpital universitaire de Kuopio Témoins de la population générale tirés au sort	**Significativité uniquement pour pièce principale** **Humidité : OR=2.24 ; $CI_{95\%}$ [1.25–4.01]** **Moisissures : OR=2.59 ; $CI_{95\%}$ [1.15–5.85]** Pas d'association pour la surface moisie et effets sur la santé
Larsson *et al.* (2011) *Environ Health Res*	Etude *transversale et* longitudinale (étude DBH) Suède N=4779 Enfants de 1 à 3 ans	Problème d'humidité, Odeur de moisi **rapportés** Questionnaire sur les 12 derniers mois - À la naissance	**Asthme incident à l'âge 6-8 ans** Questionnaire renseigné par les parents au recrutement et au suivi 5 ans après	**Longitudinale :** Humidité visible : OR = 1.49 ; $CI_{95\%}$ [0.35–6.30] **Odeur rapportée : OR=2.99 ; $CI_{95\%}$ [1.50–5.94]** **Odeur « fréquente » : OR=11.44; $CI_{95\%}$ [3.50, 37.36]** Odeur occasionnelle : OR=2.21; $CI_{95\%}$ [0.94, 5.24] Risque augmenté avec effet conjoint du revêtement PVC uniquement chez les familles avec allergie *Transversale :* Humidité visible : OR = 1.69 ; $CI_{95\%}$ [0.96–2.96] Odeur rapportée : OR=1,41 ; $CI_{95\%}$ [0.98–2.03]

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Etude de cohorte				
Hwang *et al.* (2011) *Indoor air*	Etude **cas incident-témoins nichée** dans cohorte Taiwan N=188/376 Enfant de 1 à 7 ans	Moisissures visibles, dégâts des eaux, odeur de moisi **rapportés** Questionnaire 12 derniers mois au recrutement, entre naissance et 1 an	**Asthme incident *diagnostiqué/médecin*** **Sur les 6 ans de suivi** Questionnaire dérivé d'ISAAC renseigné par les parents au recrutement et suivi pendant 6 ans	**Toute exposition : ORa=1.69 ; $CI_{95\%}$ [1.67-2.45]** **Odeur de moisi ORa =2.03 ; $CI_{95\%}$ [1.30-3.37]** **Moisissures visibles : ORa =1.76 ; $CI_{95\%}$ [1.18-2.62]** **Odeur + allergie parents : ORa =4.11 ; $CI_{95\%}$ [2.22-7.64]** **Moisissures visibles + allergie parents : ORa = 5.10 ; $CI_{95\%}$ [2.80-9.31]** ***Interactions odeur, moisissures visibles, allergie parents***
Hwang *et al.* (2012) *Annals EP*				**Toute exposition : ORa= 1.43 ; $CI_{95\%}$ [1.01–2.13]** **Odeur de moisi : ORa= 1.61 ; $CI_{95\%}$ [1.02–2.68]** **Moisissures visibles : ORa=1.50 ; $CI_{95\%}$ [1.01–2.31]** Dégât des eaux : OR=2.28 ; $CI_{95\%}$ [0.40–13.1] Populations sensibles / **génotype**

Association entre l'exposition quantitative aux moisissures et l'asthme chez l'enfant

Plusieurs études longitudinales ont porté aussi sur la relation entre une exposition aux moisissures appréhendée par des *mesures* d'agents fongiques ou microbiens (spores, métabolites secondaires et/ou produits membranaires (glucanes) ou extracellulaires (EPS)) et la survenue de symptômes respiratoires (Tableau 7).

Elles comprennent majoritairement des études de cohorte de naissance avec un suivi sur plusieurs années ayant fait l'objet de différentes publications (Douwes, 2006 ; Dales, 2006 ; Dales, 2010 ; Iossifova, 2007 ; Iossifova, 2009 ; Reponen, 2011 ; Reponen, 2012 ; Rosenbaum, 2010 ; Behbod, 2013 ; Behbod, 2015) et 2 études cas–témoin nichées dans des cohortes chez des enfants de 6 et 7 ans (Tischer, 2011a ; Dannemiller, 2014b).

Les études de cohorte de naissance ont l'avantage de mesurer les facteurs potentiellement responsables de l'asthme dans les mois qui suivent la naissance et de mesurer l'impact sanitaire sur les voies respiratoires dans les années qui suivent, le marqueur d'intérêt le plus fort étant l'asthme. La caractérisation de l'asthme chez l'enfant notamment avant l'âge de 3 ans est difficile ; les sifflements respiratoires étant la manifestation la plus courante de l'asthme du nourrisson et les études épidémiologiques manquant de définition consensuelle de l'asthme chez des enfants en bas âge (Herr Breger, 2011). Donc, les études de cohorte de naissance avant l'âge de 2 ans ne donnent que des résultats préliminaires qui doivent être confirmés à un âge plus avancé.

Ainsi, les données issues de la cohorte de naissance américaine CCAAPS sont intéressantes avec 4 publications analysant la relation entre l'exposition aux moisissures et l'asthme chez les enfants à l'âge de 1 an (Iossifova, 2007), de 3 ans (Iossifova, 2009) et de 7 ans (Reponen, 2011 ; Reponen, 2012). La caractérisation de l'exposition a reposé sur une inspection visuelle et la réalisation de prélèvements de poussières au sol effectuées au domicile de l'enfant à ces 8 mois. La stratégie d'analyse des échantillons de poussières a évolué au cours de ces publications. Dans un premier temps, l'analyse des échantillons a porté sur les composants provenant des moisissures : glucanes, ergostérol. Puis une analyse par biologie moléculaire (qPCR) pour le calcul de l'indice appelé ERMI a été réalisée sur les échantillons de poussières prélevés.

Il est mis en évidence une tendance à l'âge de 1 an **d'effet protecteur des glucanes à doses élevées alors qu'à faibles doses, les glucanes représentent un facteur de risque** (OR= 0.39, 95%CI= 0.16 – 0.93 pour le dernier quartile d'exposition [134 – 900] µg/g ; OR= 3.04, 95%CI= 1.25 – 7.38 pour le premier quartile d'exposition [3 – 22] µg/g) (Iossifova, 2007). A l'âge de 3 ans, cet effet protecteur n'est pas retrouvé en considérant la même exposition caractérisée à l'âge de 3 mois (aOR= 0.61, 95%CI= 0.24 – 1.96 pour le dernier quartile d'exposition [133,1 – 960] µg/g) (Iossifova, 2009). Dans cette même cohorte à l'âge de 7 ans, les auteurs ne prennent pas en compte ces indicateurs d'exposition (Reponen, 2011 ; Reponen, 2012). Le risque d'asthme est associé à un **ERMI** élevé peu après la naissance et est aussi associé à une augmentation d'exposition (aOR = 2.6, 95%CI= 1.10 – 6.26 en considérant deux catégories d'exposition (≥ 5.2 vs <5.2) (Reponen, 2011) et aRR= 1.8, 95%CI= 1.5 – 2.2 pour une augmentation d'une unité d'ERMI en tant que variable continue (Reponen, 2012)).

Dans l'étude de Douwes *et al.* (2006), c'est l'effet protecteur des endotoxines qui est mis en évidence sur le développement de l'asthme dans les 4 premières années de vie chez des enfants nés de mères atopiques. Le risque de sifflements persistants était également diminué chez les sujets ayant un niveau élevé d'EPS. Les résultats ne sont pas significatifs pour l'exposition aux glucanes mesurés à l'âge de 3 mois dans les poussières au sol.

Des **niveaux élevés d'endotoxines ont été associées aux épisodes respiratoires aigus** dans les 2 études de Dales *et al.* (2006 ; 2010) (augmentation du nombre de jours avec symptômes respiratoires). La surface de moisissures relevée dans cette cohorte n'était pas associée à l'incidence d'épisodes respiratoires aigus ; les auteurs soulignant la faible contamination fongique observée (moyenne géométrique de 0,1 m²).

L'effet protecteur des glucanes, des EPS et endotoxines sur les symptômes d'asthme pour des enfants de 6 ans ayant une allergie parentale sont observés dans l'étude cas-témoins niché en se limitant aux 2 études de cohorte à risque (LISA et GINI) sur les 3 cohortes considérées (Tischer, 2011a). L'analyse des données issues des 3 cohortes indique des résultats discordants.

Pour les études basées sur la culture, les 2 études de Behbod *et al.* (2013 ; 2015) à partir des données de la cohorte de naissance américaine de la ville de Boston, identifient **l'effet protecteur des levures** mesurées dans les échantillons de poussières de la chambre prélevés à l'âge de 3 mois sur les sifflements à l'âge de 1 jusqu'à 6 ans, effet moindre de 6 à 13 ans mais aussi sur le développement de l'asthme à 13 ans (OR=0.78; 95%CI=0.66-0.93 (Behbod, 2013) ; HR = 0,86, 95%CI=0.75-0,98 pour le développement de l'asthme et HR=0.88, 95%CI=0.80-0.96 pour les sifflements (Behbod, 2015)).

Au niveau des espèces fongiques, une augmentation du risque de respiration sifflante à l'âge d'1 an a été associée à l'exposition aux **genres *Alternaria*** (OR=1,83; 95%CI= 1.07-3.14), ***Cladosporium*** (OR=1.47; 1.16-1.85) et ***Penicillium*** des poussières intérieures (Behbod, 2013). Le genre *Cladosporium* dans l'air extérieur est également identifié dans cette étude comme un facteur de risque de la rhinite. Un effet de la sensibilisation allergique de la mère est indiqué pour l'association entre le sifflement et l'exposition au genre *Alternaria* dans les poussières (pour les enfants dont les mères sensibilisés aux moisissures (OR = 9,16; $CI_{95\%}$ [1,37 à 61,22], n = 46) alors que pour ceux dont les mères ne sont pas sensibilisées (OR = 1,32; $CI_{95\%}$ [0,79 à 2,20], n = 315, p interaction = 0,05). Le risque de développement d'asthme à l'âge de 13 ans est mis en évidence dans l'analyse de sensibilité pour le genre *Alternaria* dans l'air intérieur (HR=1.70 ; $CI_{95\%}$ [1.01-2.86] en considérant une variable dichotomique (≥ 75th vs <75th percentile)). L'effet de la sensibilisation allergique de la mère va dans le même sens que la première publication pour une exposition forte *Alternaria* mesurée dans les poussières et la sensibilisation allergique à âge de 12 ans (OR=4.77 ; $CI_{95\%}$ [1.55-14.68] versus OR=1.29 ; $CI_{95\%}$ [0.60-2.78]) (Behbod, 2015).

L'étude de Rosembaum *et al.* (2010) indique que l'exposition mesurée à 3 mois en ***Penicillium*** dans l'air intérieur est associée avec les sifflements sur la 1ère année de vie d'enfants vivant dans des quartiers urbains défavorisés et ayant un asthme parental (ORa=6.18 ; $CI_{95\%}$ [1.34- 28.46]).

L'étude de Dannemiller *et al.* (2014b) a analysé la relation entre la diversité fongique mais aussi les niveaux d'espèces fongiques identifiés par des technologies de biologie moléculaire et le statut d'asthme à l'âge de 7 ans. Une **faible diversité fongique** est associée à l'augmentation du risque de développement d'asthme pendant l'enfance, alors qu'aucune association avec les niveaux fongiques n'est significative.

De façon générale sur les publications reposant sur des technologies de biologie moléculaire, le délai écoulé entre le recrutement des participants réalisés dans les années 90, la période de suivi des enfants de l'ordre d'une dizaine d'années posent la question de la durée de conservation des échantillons et de la période à laquelle les analyses ont été réalisées. Ces publications récentes ne mentionnent pas ces éléments dans leur partie « Matériel et méthode ».

En conclusion, peu d'études longitudinales se sont intéressées aux associations entre l'exposition aux moisissures appréhendée par des mesures d'agents fongiques ou microbiens et la survenue de symptômes respiratoires. L'analyse des échantillons d'air et de poussières varie d'une publication à l'autre, et a porté sur différents composants provenant des moisissures tels que les glucanes, l'ergostérol ainsi qu'une analyse par biologie moléculaire (qPCR) pour le calcul de l'indice appelé Environmental Relative Moldiness index (ERMI). Les résultats obtenus sont contradictoires et ne permettent pas de conclure quand à une association entre une exposition quantitative aux moisissures et la survenue de l'asthme.

Tableau 7 : Synthèse des données des études longitudinales ayant analysé l'association entre l'exposition quantitative aux moisissures et l'asthme chez l'enfant et l'adolescent

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Douwes *et al.* (2006) *J Allergy Clin Immunol*	Cohorte de naissance à risque (mère ayant des allergies ou de l'asthme) Hollande (Etude PIAMA) N=690 Enfants Suivi sur 4 ans	Mesure dans les poussières au sol (pièce principale) et du matelas de l'enfant : Aspirateur Hitachi CV - 2500 EPS (*Aspergillus, Penicillium*) Glucanes Endotoxines Allergène (Der p1) Inspection en moyen à 5 ans (LISA, PIAMA) et 6 ans (GINI)	Asthme diagnostiqué au cours des 4 premières années de la vie. 4 phénotypes de sifflements, définis selon les réponses aux 4 ans : jamais / précoce, intermittent /début tardif / persistent Atopie définie par IgE spécifiques (8 allergènes dont 2 alimentaires) Questionnaire ISAAC, complété par les parents à l'âge de 1, 2, 3 et 4 ans.	**Mesure dans les poussières au sol : Asthme** **Endotoxines (>142, 2 et > 1657,2 EU/m^2) :** **ORa = 0.40 ; $CI_{95\%}$ [0.21 – 0.77]** EPS-Pen/Asp (8802,3 EPSu/m^2) : ORa =0.42; $CI_{95\%}$ [0.18-0.99] Sifflements persistents: EPS-Pen/Asp (8802,3 EPS u/m^2) : ORa =0.37; $CI_{95\%}$ [0.15-0.96], $p<0.05$ Les niveaux microbiens des poussières du matelas n'étaient pas associés à l'atopie ou à l'asthme.
Dales *et al.* (2006) *EHP*	Cohorte de naissance Canada N=357 Enfants Suivi sur 2 ans	-Surface totale moisie (**STM**) - Mesure dans l'air Buck SS avec un support à 3 étages 2L/min de 2 à 7 jours Polysaccharides (LPS), Glucanes, Ergostérol Inspection principalement dans les 4 premiers mois	Nombre d'épisodes respiratoires **aigüs** (**ERA**) à 2 ans obstruction nasale, toux, sifflements, dyspnée Carnet journalier complété par l'un des parents Naissance à 2 ans	LPS significatif ***STM, Ergostérol AIR non associés à LPS***
Dales *et al.* (2010) *Env Res*				Association entre la surface moisi **STM** et le niveau d'ergostérol (chambre et salon) Pas de relation entre STM et les symptômes aigüs (ERA) A noter que ***5% des maisons seulement avaient une STM > 0.2 m²***
Iossifova *et al.* (2007) *Allergy*	Cohorte de naissance à risque (1 parent avec SPT+) Etats-Unis (Etude CCAAPS) N=574 Suivis à 13 mois en moyenne*	- STM pour classification en 3 catégories - Mesure dans les poussières au sol : Aspirateur HMI, 800 L/min – 2min/m^2 sur moquette et 1 min/m^2 sur autres sols pièce activité principale bébé (salon le plus souvent) Analyse immunochimique **LPS** + **glucanes** Inspection à 8 mois	A 13 mois -Sifflement, sifflements fréquents (≥2) -Sifflements fréquent et sensibilisation allergique (≥ 1 SPT+)	***STM> 0.2 m^2*** Sifflements fréquents : ORa = 4.44 ; $CI_{95\%}$ [1.63-12.05] **Glucanes (Q1 : 3-22 µg/g)** - Sifflements fréquents : ORa = 3.04 ; $CI_{95\%}$ [1,25-7,38] - Sifflements fréquents + SPT+: ORa = 4,89 ; $CI_{95\%}$ [1.02-23,57] **Glucanes (Q4 : 134-900)** - Sifflements fréquents : ORa = 0.39 ; $CI_{95\%}$ [0,16-0,93] - Sifflements fréquents + SPT+: ORa =0,13 ; $CI_{95\%}$ [0.03-0,61]

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Iossifova *et al.* (2009) *AAAI*	Cohorte de naissance à risque (1 parent avec SPT+) Etats-Unis (Etude CCAAPS) N=483 Suivi à 3 ans		**API** (Asthma predictive Index): **Sifflements fréquents à 3 ans, au moins 1 des 3 critères majeurs** (asthme parentale, eczéma, ≥1 SPT+ aéroallergène) **Ou 2 des 3 critères mineurs** (sifflement sans rhume, Rhinite allergique (RA) diagnostiquée, SPT + au lait ou œuf)	***STM> 0.2 m²*** **API: Ora= 7.08; $CI_{95\%}$ [2.2-12.6]** Glucanes (Q1 : 3-22 µg/g) -API: ORa = 3.4; $CI_{95\%}$ [0,5-23,5] Glucanes (Q4 : 134-900) -API : ORa = 0.6; $CI_{95\%}$ [0,2-1,6] **Mère fumeuse** **API ORa = 4.4 ; $CI_{95\%}$ [1.7-11.6]**
Reponen *et al.* (2011) *AAAI*	Cohorte de naissance à risque (1 parent avec SPT+) Etats-Unis (Etude CCAAPS) N=176	- STM + questionnaire pour classification en 3 catégories (0,1,2) - Mesure dans les poussières au sol : Aspirateur HMI, 800 L/min – 2min/m² sur moquette et 1 min/m² sur autres sols Pièce activité principale bébé (salon le plus souvent) Analyse par biologie moléculaire (qPCR) **ERMI** Inspection à 1 et 7 ans environ	Asthme à 7 ans -Symptômes -Spirométrie + bronchodilatation - Hyperréactivité bronchique non spécifique (HRBNS) Sensibilisation (SPT +)	-Mesure à 1 an: **ERMI ≥5,2 vs <5,2 : ORa =2.6 ; $CI_{95\%}$ [1.10 – 6.26]** Class 2 : OR=0.3 ; $CI_{95\%}$ [0.03 – 2.04] -Mesure à 7 ans ERMI : OR = 0.7 ; $CI_{95\%}$ [0.25 – 1.71] Class 2 : OR= 1.1; $CI_{95\%}$ [0.29 – 4.52]
Reponen *et al.* (2012) *J Allergy Clin Immunol*	Cohorte de naissance à risque (1 parent avec SPT+) Etats-Unis (Etude CCAAPS) N=289	Données d'exposition précédente à l'âge de 1 an		-Mesure à 1 an: **ERMI – augmentation de 10 unités :** **RRa= 1.8 ; $CI_{95\%}$ [1.5-2.2]** **-3 niveaux fongiques (*Aspergillus niger, Aspergillus unguis, Penicillium variabile*) :** **RRa = 2.2 ; $CI_{95\%}$ [1.8 - 2.7]**
Rosenbaum *et al.* (2010) *J Expo Sc Environ Epid*	Cohorte de naissance à risque (Histoire maternelle d'asthme) Etats-Unis - Syracuse (AUDIT) N=103 Suivis à 1 an	*-Moisissures ou Humidité visibles* -Mesure dans les poussières au sol (pièce de vie principale) : Aspirateur (High volume surface sampler HVS3) Allergènes et endotoxines -Mesure dans l'air : Impacteur Andersen N6, de 3 ou 6 min Analyse par culture Moisissures et bactéries viables Inspection à 3 mois	Sifflements **à 1an** soit par : - Questionnaire rempli par une infirmière à 3,6,9 et 12 mois - Données des dossiers médicaux	-Moisissures ou Humidité visible : NS -***Penicillium*** (High : 120-1270 vs ND) : **ORa = 6.18 ; $CI_{95\%}$ [1.34-28.46)**

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Behbod *et al.* (2013) *Allergy*	Cohorte de naissance à risque (Histoire maternelle d'asthme ou d'allergie) Etats-Unis - Boston N=499 Suivi à 1 an	Mesure dans les poussières au sol (chambre de l'enfant) et dans l'air intérieur et extérieur : Aspirateur (Eureka à réservoir horizontal) Burkard DG18; 1 min, 45lpm Analyse par culture espèces fongiques Inspection à 2-3 mois	Sifflements **à 1 an** Questionnaire téléphonique bimensuel	Analyse des associations pour chaque genre fongique séparément **Mesure dans les poussières :** ***Alternaria* : OR =1.84 ; $CI_{95\%}$ [1.12-3.02]** ***Cladosporium* : OR=1.40; $CI_{95\%}$ [1.14-1.73]** ***Penicillium* : OR=1.21; $CI_{95\%}$ [1.02-1.44]** **Levures: OR= 0.85; $CI_{95\%}$ [0.72-0.99]** **Mesure dans l'air extérieur** *Cladosporium* : OR= 1.46 ; $CI_{95\%}$ [0.97-2.21] Analyse des associations pour tous les genres fongiques conjointement **Mesure dans les poussières :** ***Alternaria* : OR =1.83 ; $CI_{95\%}$ [1.07-3.14]** ***Cladosporium* : OR=1.47 ; $CI_{95\%}$ [1.16-1.85]** **Levures: OR= 0.78 ; $CI_{95\%}$ [0.66-0.93]** **Mesure dans l'air extérieur** ***Cladosporium* : OR= 1.68 ; $CI_{95\%}$ [1.04-2.72]**
Behbod *et al.* (2015) *Cl Exp All*	Cohorte de naissance à **risque** (Histoire maternelle d'asthme ou d'allergie) Etats-Unis - Boston N=408 Suivi à 13 ans	Moisissures, Humidité visibles, dégâts des eaux rapportés par les parents	-Sifflement-année évalué tous les 3 ans -Asthme-année diagnostiqué + épisode de respiration sifflante -Rhinite-année (RA) diagnostiquée (rhume des foins, symptômes nasaux) Questionnaire téléphonique bimensuel de 2 mois à 2 ans puis semestriel de 2 à 13 ans (asthme et sifflements) et annuel pour la rhinite.	**Mesure dans les poussières :** **Levures** Sifflement tout âge: HR =0.88 ; $CI_{95\%}$ [0.8-0.96] Asthme-année : HR=0.86 ; $CI_{95\%}$ [0.75-0.98] ***Aspergillus*** RA : HR =1.39 ; $CI_{95\%}$ [1.11-1.74] **Air intérieur** ***Alternaria (Q4 ≥ 11,1 vs < 11,1 CFU.m^{-3})*** Asthme : HR = 1.70 ; $CI_{95\%}$ [1.01-2.86] **Air extérieur** ***Cladosporium*** RA : HR = 2.12 ; $CI_{95\%}$ [1.14-3.92]

Tischer *et al.* (2011a)
Eur Respir J
	Etude cas/témoins nichés dans 3 cohortes de naissance
	2 allemandes
	GINI cohorte à risque (N=216)
	LISA (N=130)
	1 Hollandaise
	PIAMA (N=332)
	Enfants sensibilisés ou non (test IgE réalisé entre 2 et 4 ans)
		Mesure dans les poussières au sol (pièce principale) et du matelas de l'enfant :
		Aspiration par les parents à partir d'un sac en nylon fourni, 2 min/m²
		Analyse immunochimique
		EPS (*Aspergillus, Penicillium*)
		Glucanes
		Endotoxines
		Inspection en moyen à 5 ans (LISA, PIAMA) et 6 ans (GINI)
			Entre 5 et 6 ans
			Asthme diagnostiqué
			Rhinite diagnostiqué
			
			Questionnaire renseigné par les parents
				GINI et LISA
				Mesure dans les poussières du matelas :
				Asthme
				EPS: OR = 0,60; $CI_{95\%}$ [0,39-0,92],
				endotoxines : OR= 0,55; $CI_{95\%}$ [0,31-0,97];
				Rhinite:
				endotoxine : OR = 0,67; $CI_{95\%}$ [0,47-0,92];
				PIAMA : NS

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Dannemiller *et al.* (2014b) *Indoor air*	Etude cas-témoins nichée dans une cohorte Etats-Unis (Etude CHAMACOS) N = 41 Enfants de mère d'origine latino-américaines principalement à faibles revenus	Mesure dans les poussières au sol (pièce principale, chambre de l'enfant et cuisine) : Aspirateur (High volume surface sampler HVS3) Analyse moléculaire – NGS, ADN – PCR ; séquençage ADN-Taxo) Diversité et espèces fongiques	Asthme à 7ans symptômes actuels d'asthme et prise actuelle de traitement d'asthme ou diagnostique d'asthme par un médecin Questionnaire téléphonique	Faible diversité associée à l'augmentation du risque de développement d'asthme : **OR = 4.80 ; $CI_{95\%}$ [1.04-22.1]** Pas d'association significative pour les mesures par PCR Diminution de la diversité de *Cryptococcus neoformans*

Contrôle et activités de l'asthme (morbidité) dans les études prospectives chez l'enfant asthmatique

Cinq études de panel et un essai clinique randomisé se sont intéressés à l'évolution des symptômes d'asthme ou aux variations dans le débit expiratoire de pointe chez des enfants asthmatiques exposés aux moisissures sur des périodes allant de 2 semaines à 3 ans (Tableau 8). Ces études posent le postulat que l'exposition mesurée à l'inclusion ou à intervalles réguliers reflète l'exposition durant le suivi.

L'étude réalisée par Hagmolen of ten Have *et al.* (2007) aux Pays-Bas est la première étude à rapporter une association entre la présence d'humidité ou de moisissures visibles dans le salon ou la chambre (6,3% des habitations) et un risque pour la santé respiratoire chez des enfants asthmatiques. Dans cette étude, **l'exposition à l'humidité ou aux moisissures visibles dans les deux dernières années** était associée à une augmentation de la variabilité du débit expiratoire de pointe sur deux semaines de suivi, et à une hyperréactivité bronchique plus élevée, avant et après prise en compte des facteurs de confusion potentiels. Bien que les enfants exposés rapportaient plus fréquemment des symptômes d'asthme, aucune association significative entre l'exposition et les symptômes d'asthme n'a été trouvée, ce qui peut s'expliquer en partie par le nombre relatif d'enfants exposés (n=33). Dans cette étude, l'exposition aux moisissures était recueillie par questionnaire, ce qui constitue une limitation.

Mais des résultats allant dans le même sens pour une même période de suivi ont été identifiés dans l'étude de Bundy *et al.* (2009) réalisée aux Etats-Unis, où l'exposition à ***Penicillium*** (>0 CFU/m^3 *vs.* non détectable) a été associée à une variabilité de plus de 18,5% du débit expiratoire de pointe avant et après prise en compte des facteurs de confusion potentiels. Les moisissures ont été mises en évidence dans 93% des habitations, *Cladosporium* dans 72%, *Penicillium* dans 42%, *Aspergillus* dans 38% et *Alternaria* dans 15% d'entre elles. Comme l'indiquent les auteurs, bien que la période de suivi soit de 14 jours, seuls 1% des enfants ont été suivis pendant cette période, 65% ayant participé pendant 3 à 8 jours, et 23% de 9 à 13 jours, ce qui peut présenter une limitation. Mais ce temps de suivi étant court, il est raisonnable de penser que dans cette étude la mesure de l'exposition reflète bien l'exposition durant le suivi. Comme dans l'étude de Hagmolen of ten Have, aucune association n'a été trouvée avec les symptômes.

Sur une période de suivi un peu plus grande, un mois, l'étude de Gent *et al.* (2012) réalisée dans la même région des Etats-Unis que celle de Bundy montrait que le risque d'avoir des jours avec sifflements, toux persistante, et un score aggravé de sévérité de l'asthme était doublé chez les enfants sensibilisés et exposés à ***Penicillium*** comparativement à des enfants non sensibilisés ou non exposés. Comme dans l'étude de Bundy, aucune association n'était trouvée avec *Cladosporium*. *Penicillium* a été identifié dans 33% des habitations et *Cladosporium* dans 65% d'entre elles. 8% des enfants étaient sensibilisés à *Penicillium* ou *Cladosporium*, et 6% aux deux. Il est à noter que cette étude ne trouvait une association que chez des enfants sensibilisés. En comparaison, 67 % des enfants étaient définis comme allergiques dans l'étude de Hagmolen of ten Have et aucune information n'était disponible dans l'étude de Bundy.

L'étude d'Inal *et al.* (2007) s'est également intéressée à des enfants asthmatiques de la région d'Adana en Turquie suivis sur une période d'un an et sensibilisés aux moisissures. A la différence des études précédentes, les prélèvements d'air et les mises en culture ont été réalisés tous les mois. Comme dans les études précédentes, *Penicillium* (24.7%) et *Cladosporium* (26.4%) étaient les espèces les plus fréquentes. Aucune association significative n'a été mise en évidence entre l'exposition et les symptômes liés à l'asthme ou à la rhinite. Deux limitations principales peuvent expliquer cette absence d'association : le faible nombre de participants et une analyse statistique très simple, liée en partie au faible nombre de participants. L'étude ayant été réalisée sur une année, il est intéressant de noter que deux pics de concentration en *Penicillium* ont été observés en avril et en novembre, les pics de *Cladosporium* et *d'Alternaria* l'étant de mai à octobre.

De même, dans l'étude de Pongracic *et al.* (2010) réalisée aux Etats-Unis, l'exposition fongique, et en particulier à ***Penicillium***, était trouvée associée à un excès du nombre de jours avec

symptômes et à une augmentation de visites non planifiées à l'hôpital ou aux urgences pour asthme chez des enfants asthmatiques et atopiques de milieux urbains défavorisés. Ces résultats persistent après prise en compte de nombreux facteurs de confusion dont l'exposition fongique extérieure et le degré de sensibilisation allergique. Dans cette étude, 13% des enfants étaient sensibilisés à *Penicillium,* 18% à *Cladosporium*, 27% à *Aspergillus* et 36% à *Alternaria*. Les principaux points forts de l'étude étaient la prise en compte des expositions fongiques intérieures et extérieures, et une période de suivi de 2 ans avec une répétition des mesures tous les 6 mois. Cependant, comme pour les deux études précédentes, les mesures ont été réalisées dans les habitations d'enfants sensibilisés aux moisissures, perdant toute opportunité d'étudier les associations chez des enfants non sensibilisés.

Une étude s'est intéressée à l'effet modificateur du niveau fongique exprimé en unités par gramme de poussières sur l'association entre des polymorphismes génétiques des gènes de la chitinase et les hospitalisations ou des visites au service des urgences durant 4 années de suivi chez 395 enfants âgés de 5 à 12 ans avec un asthme persistant léger à modéré de l'étude CAMP (*Childhood Asthma Management Program*) (Wu *et al.,* 2010). Les résultats montrent que les enfants exposés à plus de 25000 $CFU.g^{-1}$ de poussières et ayant deux copies de l'allèle mineur rs2486953 du gène *CHIT1* ont une probabilité beaucoup plus élevée d'avoir une ou des hospitalisations et des visites aux services d'urgence que les enfants ayant le même génotype mais une exposition moindre (< 25 000 $CFU.g^{-1}$ de poussières). Le gène *CHIT1* code pour la chitotriosidase qui a des fonctions défensives contre les organismes pathogènes contenant de la chitine dans les poumons, et les résultats obtenus montrent que les niveaux fongiques peuvent moduler l'effet d'une susceptibilité génétique sur les visites aux services d'urgence et les hospitalisations.

En résumé, dans cinq études, l'une ayant un effectif très faible (n=19), une association, même si elle est modeste, a été systématiquement retrouvée entre **l'exposition fongique définie globalement par les moisissures visibles, ou plus spécifiquement à *Penicillium*** et une augmentation de l'activité de la maladie chez des enfants asthmatiques, qu'ils soient sensibilisés ou non aux moisissures. Il faut mentionner que dans ces études, le nombre d'espèces fongiques étudié était limité (*Alternaria, Cladosporium, Penicillium, Aspergillus*). De même, bien que de nombreux facteurs de confusion aient été considérés, d'autres expositions qui pourraient influencer les réponses aux allergènes fongiques n'ont pas été prises en compte. Dans les études de panel, la question se pose toujours de savoir si la courte durée d'échantillonnage et la variabilité entre les mesures consécutives reflètent bien l'exposition durant le suivi, et il est reconnu que la mesure du débit expiratoire de pointe est souvent difficile à recueillir. Néanmoins, toutes ces études montrent bien une association entre l'exposition fongique intérieure et une augmentation de l'activité de la maladie dans des populations variées.

En conclusion, l'exposition aux moisissures, et notamment l'exposition à *Penicillium* sont associées à une augmentation de la variabilité du débit expiratoire de pointe, un score aggravé de sévérité de l'asthme, ou encore une augmentation du nombre de jours avec symptômes et des visites non planifiées à l'hôpital chez des enfants asthmatiques. Ces résultats reflètent tous une augmentation de l'activité de la maladie dans des études où le niveau de gravité de l'asthme des enfants à l'inclusion était variable, et que ces enfants soient sensibilisés ou non aux moisissures. L'exposition aux moisissures et en particulier à *Penicillium* devrait donc être considérée comme facteur de risque de mauvais contrôle de l'asthme chez l'enfant asthmatique. Des recherches similaires devraient être menées notamment en considérant un nombre plus important d'espèces fongiques.

Tableau 8 : Synthèse des données des études prospectives ayant analysé l'association entre l'exposition aux moisissures et l'aggravation des symptômes chez des personnes asthmatiques

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Hagmolen of ten Have *et al.* (2007) *Clin Exp Allergy*	Etude de panel - **2 semaines** de suivi (2 visites) Pays-Bas N =526 **Enfants** 11 ans d'âge moyen avec diagnostic d'asthme	A l'inclusion : Questionnaire rétrospectif présence de moisissures dans les deux dernières années A la seconde visite : HRB	**Variabilité** journalière du **DEP** (débit de pointe) - Fréquences journalières des **symptômes** : sifflements, toux, dyspnée et HRB (hyperréactivité bronchique) mesurée par la pente de Sue Chinn : log PD20 diminuée reflétant HRB plus sévère	- **Aucune association** entre présence de moisissure et score de symptômes, ou diminution du nombre de jours sans symptômes - **Variabilité** du **DEP** 2.87% plus élevée chez enfants exposés (après ajustement +2,70% ; $CI_{95\%}$ [0,92 - 4,47]; p=0,003) - **HRB plus sévère** chez enfants exposés ORa=3,95 ; $CI_{95\%}$ [1.82 - 8.57]
Bundy *et al.* (2009) *AAAI*	Etude de panel -**2 semaines** de suivi Etats-Unis : Connecticut et Western Massachusetts N =225 **Enfants** de **6 à 12 ans** avec diagnostic d'asthme	A l'inclusion : -- **Mesures dans l'air intérieur:** Burkard 1min 20L/min -Analyse par **Culture** et classification en 4 catégories : 0 CFU/m^3, 1 à 499, 500 à 999, >1000 CFU/m^3 *Alternaria, Cladosporium, Penicillium, Aspergillus*	**Variabilité** journalière du **DEP** : 3 séries de mesures **2 fois par jour** matin et soir réalisées par enfants **Questionnaires** symptômes journaliers et médicaments reportés par mère	- **Aucune association** avec les symptômes : sifflements, toux persistante, symptômes nocturnes - Association entre **variabilité** du pourcentage **du DEP** de plus de 18,5% (75e percentile) et ***Penicillium*** : ORa=2,39 ; $CI_{95\%}$ [1,19 - 4,81]
Gent *et al.* (2012) *Environmental Research*	Etude de panel – **1 mois** de suivi Etats-Unis : Connecticut et Massachusetts N =1233 **Enfants** scolarisés de 5 à 10 ans avec diagnostic d'asthme	A l'inclusion : Mesures dans les **Poussières** au sol et sur les meubles - pièce principale -**Allergènes** de moisissures, acariens, chat, chien (µg/g) et blattes (U/g) -**Mesures dans l'air intérieur:** Préleveur Burkard 1min 20L/min Analyse par **Culture** 7 jours Flore totale CFU/m^3	**Symptômes** : Sifflements, toux persistante, médication et score de sévérité de l'asthme en 5 niveau reportés quotidiennement **Sensibilisation allergique**: prélèvements sanguins à l'inclusion : allergènes et IgE (Immuno-globulines E)	Association entre exposition **à *Penicillium*** chez enfants sensibilisés **et risque augmenté** de : respiration sifflante : ORa=2.12 ; $CI_{95\%}$ [1,12-4,04] toux persistante : ORa=2,01 ; $CI_{95\%}$ [1,05 - 3,85] score de gravité d'asthme plus élevé : ORa=1,99 ; $CI_{95\%}$ [1,06 -3,72] par rapport aux enfants sensibilisés mais non exposés ou enfants non sensibilisés

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Inal *et al.* (2007) *J of Asthma*	Etude de panel – **1 an** de suivi Turquie : Adana N =19 **Enfants** de 4 à 13 ans avec diagnostic d'asthme ou de rhinite et monosensibilisés aux moisissures	**Tous les mois :** - **Mesures dans l'air intérieur:** Préleveur MAS-100 Eco 100L/min Analyse par **Culture** 14 jours CFU/m^3 : Genre *Cladosporium, Penicillium, Aspergillus, Alternaria* et autres (non définies ou >1%)	**Variabilité** journalière du **DEP** (matin et soir) **Symptômes journaliers** : rhinite et asthme reportés sur journal de bord	**Aucune association** entre l'exposition moyenne aux moisissures 37,5 CFU/m^3 et les variations du DEP ou les symptômes : score d'asthme, score de rhinite
Pongracic *et al.* (2010) *JACI*	Etude de panel – **2 ans** de suivi Etats-Unis (Etude ICAS The Inner-City Asthma Study) N = 469 **Enfants** de 5 à 11 ans avec un asthme modéré à sévère et au moins 1 SPT+ (test cutané positif) aux moisissures	**A l'inclusion** puis **tous** les **6 mois :** 2 mesures consécutives Préleveur Burkard 1min 30,5L/min - Mesure dans l'air intérieur- chambre de l'enfant (1 m du sol) - Mesure dans l'air extérieur proche de l'entrée Analyse par **Culture** 40 jours CFU/m^3 : *Alternaria, Cladosporium, Penicillium, Aspergillus* - Mesure dans les p**oussières : **lit et sol de la maison	**Questionnaires** téléphoniques tous les 2 mois : **nombre** max de **jours** avec **symptômes** sur 2 semaines : sifflements, oppression dans la poitrine ou toux; réveil à cause d'asthme, et ralentir ou s'arrêter de jouer à cause d'asthme **nombre** total de visite non planifié à l'hôpital et aux urgences **(UV)** dans les 2 derniers mois	A l'inclusion, enfants avec SPT+avaient plus de MSDs par rapport aux SPT- (6.3 vs 5.7/2 sem., p<.04). Après prise en compte de l'exposition fongique extérieure : - **Association** entre augmentation de 10x le niveau ***Penicillium*** et excès du nombre de jours avec symptômes: excès de 1,19 jours /2 semaine, p<0.03. - **Association** entre exposition intérieure totale et exacerbations nécessitant une **UV** : OR pour une augmentation de 10x le niveau : OR=1.22 ; $CI_{95\%}$ [1.05-1.43] - Exposition aux **4 moisissures** (OR=1.13 ; $CI_{95\%}$ [1.01-1.26]) et exposition à ***Penicillium*** (OR=1.15 ; $CI_{95\%}$ [1.05-1.27]) associées au risque d'**UV** - Association ***Penicillium*** intérieur et risque **UV** chez enfants SPT- pour Penicillium (OR=1.11 ; $CI_{95\%}$ [1.03-1.20]
Wu *et al.* (2010) *AJRCCM*	Etude multicentrique (essai clinique randomisé) Etats-Unis (Etude CAMP) N=395 Enfants de 5 à 12 ans ayant un asthme persistent léger à modéré	Mesure dans les poussières au sol (pièce principale, chambre et cuisine) et du matelas de l'enfant : CFU/ g : seuil à 25 000 Aspirateur équipé d'un filtre (Douglas Redivac model)– 2 minutes pour chaque zone de surfaces différentes Prélèvement de poussières à 6 mois après inclusion dans l'étude 2 inspections : dans les 6 premiers mois de l'étude et	Exacerbations sévères d'asthme : Hospitalisation ou visite aux urgences rapportées pendant les 4 ans de suivi Polymorphisme chitinase Visite tous les 4 mois	Exacerbations augmentent si niveaux > 25.000 CFU/g (seuil considéré avec 24% ayant une exposition <25000) mais uniquement si polymorphisme chitinase 1 (CHIT1 + homozygote pour rs2486953)

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
		après 3 ans de suivi ou en cas de déménagement (CAMP, 2006)		

4.3.3.1.3 Données d'études longitudinales chez l'adulte

<u>Association entre l'exposition aux moisissures et l'asthme chez l'adulte en population générale</u>

A ce jour il existe peu d'études longitudinales ayant étudié les relations entre l'exposition aux moisissures et la santé respiratoire chez l'adulte (Tableau 9).

Dans une étude cas-témoins finlandaise, où les cas étaient des asthmatiques dont l'asthme était apparu récemment, Jaakkola *et al.* (2006) ont recherché les effets propres et combinés de l'exposition aux matériaux de surface (plastique ou moquette) et aux moisissures. L'exposition aux moisissures individuellement, au domicile ou sur le lieu de travail n'était pas associée à une augmentation significative du risque d'asthme. En revanche, le risque d'asthme était significativement augmenté en cas d'exposition aux moisissures combinée à la présence de moquette sur le lieu de travail.

En population générale, l'analyse rétrospective à partir des données de la vaste cohorte RHINE dans les pays scandinaves, montre que les sujets qui avaient vécu dans des **logements humides** avaient plus de risque d'avoir développé des symptômes respiratoires que les sujets ayant vécu dans des logements « secs » (Gunnbjörnsdóttir, 2006). Inversement, la rémission des symptômes (en particulier les symptômes nocturnes) était moins fréquente chez les sujets vivant dans des logements humides. Pour l'asthme, le pourcentage de ceux ayant développé de l'asthme était de 3,8% chez les sujets ayant vécu dans des logements « secs » contre 4,1% pour les logements humides, mais la différence n'était pas significative. Etant donné la taille de l'échantillon, il est peu probable que l'absence de relation significative avec l'incidence de l'asthme soit due à un problème de puissance. Cependant, l'étude rétrospective ne différenciait pas les indicateurs liés à l'humidité du logement. Seule **l'analyse transversale** donne des résultats sur les moisissures, et indique que **la présence de tâches de moisissures** est significativement associée au risque d'asthme.

Norbäck *et al.* (2011 ; 2013) ont mené deux analyses à partir des données de l'étude European Community Respiratory Health Survey (ECRHS), une vaste étude multicentrique menée dans plusieurs pays, pour la plupart européens. Un premier article porte sur le déclin de la fonction ventilatoire (VEMS) (Norbäck 2011). Des questions sur la survenue de dégâts des eaux dans le logement, et sur la présence de moisissures sur une surface quelconque à l'intérieur du logement (i) à un moment quelconque et (ii) dans les 12 derniers mois étaient posées à l'inclusion et au suivi. Un score d'exposition était construit à partir des réponses à l'inclusion et au suivi. De plus, la présence d'humidité, de moisissure et de condensation sur les vitres « observée » était évaluée par un enquêteur lors d'une visite du domicile au suivi à 9 ans, dans 3118 logements.

Dans cet échantillon représentatif de la population générale, les problèmes d'humidité étaient assez fréquents, 10% des sujets rapportant un dégât des eaux dans les 12 derniers mois, et 16% la présence de moisissures. Des pourcentages similaires étant observés à l'inclusion et au suivi. De façon intéressante, le score d'humidité était faiblement corrélé au score de moisissures. Cette étude ne montre pas d'association entre l'exposition aux moisissures et le déclin de la fonction respiratoire. En revanche, d'autres aspects liés à **l'humidité du logement**, comme les dégâts des eaux et la présence de tâches d'humidité étaient associés à un déclin accéléré de la fonction respiratoire, mais chez les femmes uniquement. Les femmes ayant un score d'exposition à l'humidité>0 avaient un déclin du VEMS supplémentaire de -2.25 ml/an, s'ajoutant au déclin de -22.11 ml/an des femmes non exposées. Pour comparaison, le tabagisme montrait un effet du même ordre de grandeur dans cette cohorte, avec déclin supplémentaire du VEMS de -4ml/an chez les sujets fumant 10 à 20 cigarettes par jour, et de -9.5 ml/an chez les fumeurs de +20 cigarettes par jour. Les raisons pour lesquelles l'effet de l'exposition à l'humidité n'est observé que chez les femmes et pas chez les hommes ne sont pas claires. Les auteurs avancent l'hypothèse d'une plus grande susceptibilité des femmes ou d'une plus longue exposition des femmes à l'intérieur du logement.

Le même groupe (Norbäck, 2013) a également étudié le risque de développer un asthme chez des sujets sans asthme ni symptôme d'asthme à l'inclusion, dans la même cohorte. L'analyse selon l'exposition à l'inclusion indique que le risque de développer un asthme est plus élevé chez les sujets exposés aux moisissures dans les 12 derniers mois. En revanche, il n'y avait pas d'association avec la présence à un moment quelconque de moisissures dans la chambre ou la pièce de vie principale. La fraction attribuable (proportion de cas qui seraient évités si l'exposition était éliminée) était estimée à 5,1% pour l'exposition aux moisissures dans les 12 derniers mois. L'analyse combinant les réponses à l'inclusion ou au suivi montre en plus des relations significatives pour les moisissures dans la chambre ou la pièce principale, et une fraction attribuable à 10,3% pour **l'exposition aux moisissures dans les 12 derniers mois**. L'analyse stratifiée selon le sexe ne montre pas d'interaction, sauf pour l'exposition aux moisissures dans la pièce principale, dont l'effet était plus marqué chez les femmes. Des tendances de type dose-réponse étaient observées pour le score d'exposition, et pour le nombre de pièces présentant des moisissures. Enfin, la relation entre l'exposition aux moisissures dans la pièce de vie et l'asthme incident était plus forte chez les sujets polysensibilisés et chez ceux sensibilisés aux moisissures. L'étude couvrait différentes zones géographiques, et les résultats concernant les relations avec les moisissures étaient assez hétérogènes selon les zones. Cette étude indique donc que l'exposition aux moisissures est associée à une augmentation du risque de développer un asthme chez l'adulte, et met en évidence des relations doses-réponses. Toutefois, pour ces relations doses-réponses, l'exposition n'était pas nécessairement mesurée avant l'apparition de l'asthme.

En résumé, sur les 4 études longitudinales identifiées chez l'adulte :

- une seule porte sur l'exposition aux moisissures mesurée avant le développement de l'asthme. Cette étude met en évidence une augmentation significative du risque de développer un asthme chez les personnes exposées ;
- une étude porte sur l'évaluation rétrospective de l'humidité dans le logement et indique que l'humidité du logement est associée à une augmentation de l'incidence (et une rémission moins fréquente) des symptômes de type asthmatiques, mais ne montre pas d'association avec l'asthme, et cela malgré la taille importante de l'échantillon ;
- une étude sur des cas d'asthme récemment diagnostiqués ne met pas en évidence d'association avec l'exposition aux moisissures au domicile ;
- enfin, une étude indique une association entre le déclin de la fonction respiratoire et la présence d'humidité dans le logement, mais n'indique pas d'association avec les moisissures.

Au total, il y a actuellement trop peu d'études longitudinales, et qui donnent des résultats insuffisamment cohérents pour pouvoir conclure quant à l'effet propre des moisissures par rapport aux autres facteurs liés à l'humidité dans les logements vis à vis de l'incidence de l'asthme, en population générale.

Tableau 9 : Synthèse des données des études longitudinales ayant analysé l'association entre l'exposition qualitative aux moisissures et l'asthme chez l'adulte

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Jaakkola *et al.* (2006) *Am J Epidemiol*	Etude cas incidents d'asthme (N=521)- Témoins (N=932), Finlande Population générale (21-63 ans)	Moisissures visibles et odeur de moisi **rapportés** au domicile et sur le lieu de travail Questionnaire	Effet de l'exposition aux moisissures et aux matériaux de surface sur asthme incident	Asthme incident Exposition au Domicile Moquette : ORa=0.77 ; $CI_{95\%}$ [0.46-1.30] Moisissures seul : ORa=1.10, $CI_{95\%}$ [0.76-1.59] Moquette+Moisis. :ORa=1.51 ; $CI_{95\%}$ [0.30-7.64] Exposition au Travail Moquette : ORa=1.43 ; $CI_{95\%}$ [0.69-2.96] Moisissures seul : ORa=1.39 ; $CI_{95\%}$ [0.91-2.13] **Moquette+Moisissures :ORa=4.64 ; $CI_{95\%}$ [1.11-19.4]**
Gunnbjörnsdóttir *et al.* (2006) *Thorax*	Etude de cohorte Islande, Norvège, Suède, Danemark, Estonie (Etude RHINE) N= 16 190 Population générale 20-44 ans à l'inclusion	Moisissures visibles, dégât des eaux, humidité **rapportés** Questionnaire postal court (ECRHS) en 1990-94, et Questionnaire postal détaillé 7,9 ans plus tard Analyse transversale : Questionnaire postal au suivi. Auto-déclaration par le sujet sur les 12 derniers mois. Analyse rétrospective : déclaration de signes d'humidité dans le logement (dégât des eaux ou moisissures) depuis l'étude précédente	Prévalence, incidence et rémission de symptômes respiratoires et asthme	- En transversal, **associations positives** entre chacun des signes d'humidité et les symptômes respiratoires (**OR=1.53 ; $CI_{95\%}$ [1.18-1.98] pour moisissure visibles et asthme**) - En longitudinal (rétrospectif) : **Incidence** **Logements humides vs. Non humides** **Sifflements : ORa=1.28 ; $CI_{95\%}$ [1.12-1.46]** **Essoufflt nocturne : ORa=1.33 ; $CI_{95\%}$ [1.09-1.63]** **Toux Nocturne : ORa=1.26 ; $CI_{95\%}$ [1.13-1.41]** Asthme : ORa=1.13 ; $CI_{95\%}$ [0.92-1.40] **Rémission** Sifflements : ORa=0.88 ; $CI_{95\%}$ [0.74-1.03] **Essoufflt nocturne : ORa=0.68 ; $CI_{95\%}$ [0.48-0.96]** **Toux Nocturne : ORa=0.84 ; $CI_{95\%}$ [0.73-0.97]** Asthme : ORa=0.65 ; $CI_{95\%}$ [0.36-1.17]
Norbäck *et al.* (2011) *Thorax*	Etude longitudinale Europe (ECRHS I & II) N = 6443 Adultes âgés de 20-45 ans à l'inclusion et ré-évalués 9 ans après, avec mesure de la fonction respiratoire	Moisissures visibles, dégât des eaux, humidité **rapportés** Questionnaire à l'inclusion et au suivi sur les 12 derniers mois + visite du domicile de 3118 logements lors du suivi à 9 ans Score d'humidité/score de moisissure =somme des réponses à l'inclusion et au suivi	Déclin du Volume expiratoire maximum seconde (VEMS)	**Pas d'association entre le déclin du VEMS et l'exposition aux moisissures (rapportée ou observée).** **Association entre le déclin du VEMS et l'humidité rapportée**, *chez les femmes uniquement* : déclin supplémentaire du VEMS de -2,25 ml/an (IC95% -4,25 à -0,25), [et de -3.00 ml/an (-5.00 à -0.99) après

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
		Humidité, moisissures, condensation **renseignées par un enquêteur** au suivi (visite du domicile par un enquêteur)		exclusion des femmes asthmatiques] [pas d'association chez les femmes asthmatiques] Tendance significative avec l'augmentation du score indiquant une relation dose-réponse ***Pas d'association** chez les hommes* **Association avec la présence de tâches d'humidité observée dans la chambre** *Chez les femmes* déclin supplémentaire -7.43 ml (-13.11 à -1.74 ml). *Chez les hommes* résultats similaires mais non-significatif (NS) (-4.84 ml ; $CI_{95\%}$ [12.50 - +2.85]
Norbäck *et al.* (2013) *Occup Environ Med*	Etude longitudinale Europe (ECRHS I & II) N = 7104 Adultes jeunes *sans asthme ni symptômes de type asthmatique à l'inclusion*, suivis 9 ans	Moisissures visibles, dégât des eaux, humidité **rapportés** Questionnaire à l'inclusion et au suivi sur les 12 derniers mois Score d'humidité/score de moisissure =somme des réponses à l'inclusion et au suivi Humidité, moisissures, **renseignées par un enquêteur** au suivi (visite du domicile par un enquêteur)	Asthme incident (crise d'asthme dans les 12 derniers mois, traitement pour asthme, ou réveil par une crise d'essoufflement dans les 12 derniers mois rapporté au suivi) Asthme incident associé à une hyperréactivité bronchique (HRB).	**Risque Relatif pour l'asthme incident** **Exposition rapportée à l'inclusion** **- dégât des eaux-12 mois** **RR= 1.46 ; $CI_{95\%}$ [1.09 - 1.94]** **- moisissures 12 mois** **RR= 1.30 ; $CI_{95\%}$ [1.00 - 1.68]** - moisissures chambre (NS) - moisissures pièce principale (NS) **Exposition rapportée cumulée inclusion et/ou suivi** **- moisissures dans la chambre** **RR= 1.43 ; $CI_{95\%}$ [1.12 - 1.84]** **RR= 4.38 ; $CI_{95\%}$ [1.80 - 10.62]** chez les sujets sensibilisés aux moisissures **- moisissures dans la pièce principale** **RR= 1.48 ; $CI_{95\%}$ [1.10 - 2.01]** **- score d'exposition aux moisissures** Score 0 RR=1 (ref.) Score 1–2 RR=1.05 ; $CI_{95\%}$ [0.82 - 1.33] (NS) **Score 3–4 RR=1.73 ; $CI_{95\%}$ [1.27 - 2.37] ; *p de tendance 0.007*** Exposition observée au suivi Moisissures observées RR=1.15 ; $CI_{95\%}$ [0.71 - 1.85] (NS)

Exposition sur le lieu de travail

En Finlande, Jaakkola *et al.* (2002) avaient déjà montré que le risque d'asthme incident chez l'adulte était lié à la **présence de moisissures visibles ou d'odeur de moisissures sur le lieu de travail**. Dans une nouvelle étude les auteurs ont montré que le risque d'asthme incident était significativement augmenté en cas d'exposition aux moisissures sur le lieu de travail, si cette exposition est combinée à la présence de moquette (Jaakkola, 2006 ; Tableau 10).

En Finlande toujours, l'équipe de Karvala et Nordman a mené plusieurs études pour évaluer les répercussions de l'exposition à l'humidité sur les lieux de travail. Il faut noter que dans ce pays, l'asthme induit par l'exposition à l'humidité et aux moisissures sur le lieu de travail est reconnu comme maladie professionnelle, et selon le registre des maladies professionnelles, les moisissures dans les locaux représentent la cause la plus fréquente d'asthme professionnel depuis 2001. Pour répondre à la législation de l'époque, le diagnostic d'asthme professionnel devait être confirmé par une réponse positive à des tests d'inhalation aux moisissures.

Une première étude (Karvala, 2010) décrit largement les procédures de diagnostic et les caractéristiques cliniques d'une série de patients selon qu'ils aient un asthme dont le lien avec l'exposition aux moisissures est reconnu comme « probable » « possible » ou « improbable ». Cet article décrit aussi le suivi, 6 mois après le diagnostic, de 136 des patients ayant un asthme « probable ». Parmi ces patients, seulement 58% avaient repris le travail. Chez les 136 patients suivis, les symptômes n'avaient pas changé dans 54% des cas, s'étaient améliorés chez 44% des cas, et avaient empiré dans 2% des cas. Parmi les 136 patients, 13 étaient toujours exposés au même environnement professionnel, et aucun ne rapportait d'amélioration des symptômes.

La même équipe a ensuite développé un questionnaire pour suivre un large échantillon de patients examinés pour symptômes liés à l'humidité et aux moisissures sur le lieu de travail. Un article de 2011 porte sur le risque de développer un asthme, chez des patients avec des symptômes de type asthmatique (toux, essoufflements ou sifflements), mais sans asthme objectivement diagnostiqué à la visite d'inclusion (Karvala, 2011). Au total, 46,7% des sujets ayant développé un asthme n'avaient plus d'activité professionnelle au moment du suivi. Parmi les patients qui travaillaient, 6,7% de ceux ayant développé de l'asthme continuaient de travailler dans le même environnement, sans qu'il n'y ait eu de remédiation (contre 2,4% chez ceux sans asthme au suivi). Le risque de développer de l'asthme était 4,6 fois plus élevé chez les patients qui rapportaient toujours une **exposition à l'humidité et aux moisissures sur le lieu de travail**. Il n'y avait pas de différence selon la présence d'antécédents d'allergie chez le patient. Chez les patients travaillant sur le même lieu de travail, après remédiation, persistait un excès de risque (OR=2.0 ; non significatif) de développer de l'asthme ; ce qui pourrait indiquer que la remédiation n'a pas été suffisante. Un article de 2013 (Karvala, 2013) indique que, au suivi, la qualité de vie des sujets qui avaient reçu un diagnostic d'asthme professionnel lié à l'humidité des locaux était diminuée par rapport à ceux qui avaient un asthme aggravé par l'humidité ou ceux qui avaient des symptômes mais pas d'asthme, et cela malgré la pension qu'avait reçue le premier groupe. La différence était significative pour la composante physique du score du SF12[12], mais pas pour la composante mentale. Pour la composante physique, la qualité de vie était diminuée chez les patients ayant un asthme lié à l'humidité, quel que soit leur statut actif ou sans emploi au moment du suivi. Un autre article (Karvala, 2014) montre que, au suivi, les patients qui avaient un asthme professionnel causé par l'humidité et les moisissures dans les locaux évaluaient leur capacité à travailler avec les moins bons scores ; 31% d'entre eux évaluant leur capacité comme médiocre (score 0-5) par rapport à 9% dans le groupe de référence ayant uniquement des symptômes des voies aériennes supérieures. Les patients ayant un asthme exacerbé par l'exposition à l'humidité et aux moisissures avaient également plus de difficulté à travailler. De plus, le risque d'avoir une cessation précoce d'activité était près de 6 fois plus élevé chez les patients ayant un diagnostic d'asthme professionnel lié à l'humidité et aux moisissures. Au suivi 40% des patients ayant un asthme professionnel lié à l'humidité ne travaillaient plus. Les auteurs soulignent la faible

[12] SF12 : Echelle de qualité de vie

proportion d'actifs parmi ces patients ayant un asthme professionnel, alors que la majorité de ces patients travaillaient à des postes qui ne demandaient pas d'efforts physiques (enseignants, personnels médicaux ou employés de bureaux). Contrairement aux travailleurs ayant un asthme professionnel lié à l'exposition à des agents sensibilisants, les employés ayant un asthme professionnel lié au bâtiment ne devraient pas avoir besoin de changer d'emploi ; des réparations sur le bâti ou un changement du lieu de travail étant suffisants. Le taux élevé d'arrêts définitifs du travail parmi ces asthmatiques pourraient donc refléter le fait que la remédiation des bâtiments demande beaucoup de temps et n'est pas toujours efficace, et les arrangements pour une relocalisation sont parfois difficiles à mettre en œuvre. Les auteurs suggèrent que ces éléments pourraient, en augmentant la durée des périodes d'absence pour maladie et retardant le retour au travail, contribuer à l'incapacité permanente. Cette étude souligne donc l'importance de mettre en place des mesures de prévention efficaces pour limiter l'incapacité au travail et favoriser le retour au travail des travailleurs ayant des symptômes liés à l'humidité ou au moisissures dans le bâtiment.

Aux Etats-Unis, Park *et al.* (2008) ont étudié le risque de développer de l'asthme lié au bâtiment chez des travailleurs de bureaux travaillant dans un bâtiment qui avait connu des dégâts des eaux importants. Un premier article porte sur le niveau d'exposition aux différents types de moisissures et à l'ergostérol, selon les symptômes des travailleurs, et notamment l'asthme diagnostiqué après le début du travail. Les résultats montrent des associations significatives entre le risque d'avoir un asthme apparu après la prise de fonction et **les niveaux d'exposition aux moisissures, en particulier les moisissures hygrophiles**.

Dans une autre étude (Park, 2012), les mêmes auteurs étudient le risque de développer de l'asthme, chez des travailleurs sans asthme à l'enquête initiale. Des travaux de remédiation avaient eu lieu début 2004, mais l'effet bénéfique (diminution du niveau de moisissures sur les postes de travail qui avaient bénéficié d'une remédiation) observé en 2004 et 2005, avait disparu en 2007. Dans le modèle prenant en compte la présence de symptômes de rhino-sinusite liés au bâtiment à l'inclusion, l'exposition fongique à l'étude initiale et les niveaux d'ergostérol et d'endotoxines, le risque de développer de l'asthme lié au bâtiment augmentait avec la présence de rhinosinusite d'une part, et avec le niveau d'exposition fongique d'autre part. Le modèle avec interactions montrait une augmentation très forte du risque d'asthme (OR = 7.4 ; $CI_{95\%}$ [2.8–19.9]) chez les sujets présentant à la fois un **niveau d'exposition fongique élevé** et une rhinosinusite à l'inclusion. L'analyse considérant l'exposition fongique mesurée la même année que l'asthme, au lieu de l'exposition fongique initiale, ne mettait pas en évidence d'association. En conséquence, les auteurs soulignent l'importance de bien évaluer tout l'historique de l'exposition aux produits liés à l'humidité dans les bâtiments, et pas seulement l'exposition récente. D'une façon générale, ces résultats suggèrent que la présence de symptômes de rhinosinusite liés à l'occupation de bâtiments ayant connus des dégâts des eaux pourrait être un signal, indicateur de risque de développement d'asthme dans ces bâtiments, et devrait motiver l'évaluation et la remédiation du bâtiment pour éliminer l'humidité et les expositions associées.

Ainsi, les études qui portent sur l'exposition aux moisissures sur le lieu de travail donnent des informations complémentaires indiquant l'existence de relations entre l'exposition aux moisissures et l'incidence et la morbidité de l'asthme chez l'adulte. Cependant ces études ont été menées dans des pays nordiques ou dans des établissements ayant connu des dégâts des eaux importants aux Etats-Unis. Il serait utile d'avoir plus de données sur les niveaux d'exposition rencontrés dans les locaux professionnels, dans les différentes régions, en France.

Tableau 10 : Synthèse des données des études longitudinales ayant analysé l'association entre l'exposition aux moisissures sur le lieu de travail et l'asthme chez l'adulte

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Karvala *et al.* (2010) *Int Arch Occup Environ Health*	Etude longitudinale - Evaluation rétrospective d'après dossier Finlande N=258 patients examinés entre 1995-2004 au Finnish Institute of Occupational Health (FIOH) pour suspicion de maladie professionnelle liée à l'exposition à l'humidité et aux moisissures sur le lieu de travail Et suivi à 6 mois de 136 patients ayant un asthme lié aux moisissures « probable »	Evaluation de l'exposition rétrospective estimée par une personne qualifiée : rapports techniques et résultats d'analyses microbiologiques + estimation de la durée d'exposition 4 classes d'exposition aux moisissures (surface moisie ou concentration fongiques) : « faible »,« intermédiaire », « élevée », « Données insuffisantes »	Patients divisés en 4 groupes : Asthme professionnel (AP) dont le lien avec l'exposition aux moisissures est « probable » (n=156), « possible » (n=45) ou « improbable » (n=57) SPTs à 29 allergènes de moisissures. IgE spécifiques Et tests d'inhalation spécifiques à des extraits de moisissures (*Aspergillus fumigatus,* *Acremonium kiliense*, *Cladosporium cladosporioides* et *Cladosporium herbarum* pour quelques tests)	Le niveau d'exposition était intermédiaire à élevé chez 79% des patients (94% chez les AP « probable »), avec une durée d'exposition généralement >5 ans. L'atopie était distribuée de façon homogène dans les différents groupes. La sensibilisation aux moisissures était plus fréquente chez les AP « probables » (20.3%) (vs. 4.4% chez les « possible » et 10.7% chez les « improbables »). Parmi les 36 sujets SPT+ pour les moisissures, allergènes retrouvés : - *Aspergillus fumigatus* (25 sur 36), - *Cladosporium cladosporioides* (7) - *Rhodotorula rubra* (7) - *Acremonium kiliense* (5) - *Penicillium expansum* (5) 1/3 des patients étaient positifs pour plusieurs moisissures Parmi les 133 sujets avec un test d'inhalation positif, allergènes les + fréquents : *Aspergillus fumigatus (85) puis Cladosporium cladosporioides (26) ; Acromonium kiliense (19), et Cladosporium herbarum (3)* 42% des patients ayant un AP probable ne travaillaient plus au suivi
Karvala *et al. (*2011) *Int Arch Occup Environ Health*	Etude longitudinale Finlande N=483 patients (88% femmes) examinés au FIOH, avec des symptômes de type asthmatique liés à l'humidité ou aux moisissures sur le lieu de travail, *mais sans asthme objectivement diagnostiqué à l'inclusion,* suivis par questionnaire 3 à 12 ans après l'inclusion	Même évaluation d'exposition que l'article Karvala *et al.* (2010) Dans 83% des cas, l'exposition à des moisissures intérieures était confirmée par des mesures microbiologiques et des rapports techniques Les patients ne devaient pas être exposés aux moisissures à leur domicile pour être inclus dans l'étude	Développement d'un asthme diagnostiqué par un médecin, rapporté par le patient au questionnaire de suivi	OR ajusté pour le **risque de développer de l'asthme** - non exposé au suivi (relocalisation, locaux non humides) OR=1.00 (ref) - même lieu, après remédiation OR=2.0 ; $CI_{95\%}$ [0.7-5.4] - **exposition continue (même lieu sans remédiation ou nouveau lieu mais exposé) OR=4.6 ; $CI_{95\%}$ [1.8-11.6]** **- expo continue et antécdts d'allergie OR=5.1 ; $CI_{95\%}$ [1.4-19.1]** **- expo continue non allergique OR=4.7 ; $CI_{95\%}$ [1.2-18.6]**

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Karvala *et al.* (2013) *Int Arch Occup Environ Health*	Etude longitudinale Finlande N=1,267 patients examinés entre 1995-2004 au FIOH, et suivi par questionnaire 3 à 12 ans après l'inclusion	Même évaluation d'exposition que l'article Karvala *et al.* (2010)	Patients en 4 groupes selon leur diagnostic à l'inclusion : Symp.VASup N=204 Symp.Resp N=483 Asth.Exacerb N=453 Dg.AstProf N=127 (voir Karvala 2014) Qualité de Vie (SF12), Physical et Mental Component scores (PCS et MCS) Anxiété & dépression Somatisation Niveau de traitement de l'asthme	Qualité de vie SF12 Score, mean (SD) Physical Component Score Symp.VASup 69.7 (28.9) Symp.Resp 62.9 (29.7) Asth.Exacerb 54.7 (30.6) Dg.AstProf 45.4 (29.1) $p<0.001$
Karvala *et al.* (2014) *Int Arch Occup Environ Health*	Etude longitudinale Finlande N = 1,098 patients de moins de 65 ans (au suivi) examinés entre 1995-2004 au FIOH, et suivi par questionnaire en 2007 (8,7 ans après l'inclusion)	Même évaluation d'exposition que l'article Karvala *et al.* (2010)	Patients en 4 groupes selon leur diagnostic à l'inclusion : (1) Diagnostic d'asthme professionnel lié à l'humidité sur le lieu de travail (Dg.AstProf) ; (2) Asthme exacerbé par l'exposition à l'humidité (Asth.Exacerb) ; (3) Symptômes de type asthmatique (Symp.Resp) ; (4) Symptômes des voies aériennes supérieures uniquement (Symp.VASup) - Capacité à travailler (auto-évaluée, sur une échelle de 0 à 10, 10 indiquant le meilleur niveau) - Cessation d'activité : (1) retraite anticipée pour cause d'incapacité (pension d'invalidité ou de compensation pour les travailleurs) ou (2) chômage	Faible Capacité au travail (score<8) % ORa; [$CI_{95\%}$] Symp.VASup 34% 1.0 Symp.Resp 40% 1.2; [0.8-1.7] Asth.Exacerb 50% 1.8; [1.2-2.8] Dg.AstProf 56% 2.6; [1.4-4.7] Cessation d'activité anticipée % ORa [$CI_{95\%}$] Symp.VASup 7% 1.0 Symp.Resp 13% 1.6 ; [0.8-3.1] Asth.Exacerb 12% 1.6 ; [0.8-3.1] Dg.AstProf 34% 5.7 [2.8-11.9] OR ajustés sur âge, sexe, groupe professionnel, tabagisme, atopie, et comorbidité. L'ajustement supplémentaire sur la dépression et somatisation ne changeait pas les résultats.

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Park *et al.* (2008) *EHP*	Etude cas-témoins nichée (2001) Etats-Unis (Nord-Est), N = 200 sujets ayant des symptômes respiratoires, dont n=49 ayant un asthme actuel, diagnostiqué après le début de l'emploi, et 152 sujets sans symptôme (groupe témoin) Travailleurs de bureaux ayant connu des dégâts des eaux	Etude environnementale en 2002. Mesure dans les poussières (sol et chaise) des postes de travail de 323 sujets (2002) : Moisissures cultivables, ergostérol, endotoxines, et allergènes de chat et chien.	Symptômes respiratoires et asthme actuel diagnostiqué après le début de l'emploi	**Association entre l'asthme post-emploi** et exposition au niveau de la chaise (OR pour une augmentation d'un écart inter-quartile) <u>Modèle 1 (variables prises une à une)</u> **Moisissures** **Totales 1.67 ; [1.07-2.60]**** **Aw≥0.8 1.56 ; [1.05-2.30)**** Non Aw≥0.8 1.20 ; [0.67-2.18] **Hygrophiles 1.85 [1.19-2.89]**** **Ergostérol 1.63 [0.95-2.81]*** Endotoxines 1.15 [0.71-1.87] <u>Modèle 2 (ajusté mutuellement)</u> **Moisissures hydrophiles 1.79 [1.12-2.85]** Ergostérol 1.47 [0.81-2.63] Endotoxines 0.87 [0.51-1.47]
Park *et al.* (2012) *Indoor air*	Etude longitudinale Etats-Unis (Nord-Est), N = 131 sujets avec des symptômes de rhinosinusite associés au bâtiment (« BR-rhino »), *mais sans asthme à l'inclusion*, et N = 361 *sans BR-rhino ni asthme à l'inclusion* Travailleurs de bureaux ayant connu des dégâts des eaux	Auto-questionnaire 2001 ; 2004 ; 2005 ; 2007) + étude environnementale en 2002. Mesures dans les poussières au sol en 2002 sur 338 postes de travail : Moisissures cultivables, ergostérol, et endotoxines. Echantillonnages répétés en 2004 (338 postes); et en 2005 (300 postes) et 2007 (150 postes).	Risque de développer des symptômes d'asthme liés au bâtiment* (asthme-BR) selon la présence de symptômes de rhinite liés au bâtiment (BR-rhino) à l'étude initiale, et l'exposition fongique. (régression logistique polynomiale, avec l'asthme incident en 3 classes : pas de symptômes d'asthme, symptômes non lié au bâtiment, et symptômes liés au bâtiment-BR*). (* le sujet rapporte que ces symptômes s'améliorent lorsqu'il est en dehors du bâtiment)	OR (ajusté aussi sur ergostérol, et endotoxines) pour le **développement de l'asthme-BR** - Présence de Rhino-BR à l'inclusion Sans Rhino 1.00 (ref) **Avec Rhino-BR 2.24 ; [1.34–3.72]** - **Moisissures cultivables à l'inclusion** 1er tertile 1.00 (ref) **2ème tertile 3.59 [1.46-8.83]** **3ème tertile 4.92 [1.90-12.72]** **Pas d'association pour l'analyse selon l'exposition fongique mesurée la même année** que l'asthme

4.3.3.1.4 Relation dose-réponse et niveaux d'exposition

La revue de la littérature réalisée dans le cadre de cette expertise a fait ressortir un nombre important de publications d'études épidémiologiques notamment transversales reposant sur une grande diversité des méthodes pour caractériser l'exposition aux moisissures.

Les données disponibles dans des études de cohorte, cas-témoins et transversales sont présentées dans les Figures 6 à 12. Cette présentation est inspirée de l'expertise de l'Anses sur la proposition de valeurs guides de qualité d'air intérieur (VGAI) pour le dioxyde d'azote (NO_2), la démarche adoptée pour proposer une VGAI pour le NO_2 reposant sur le faisceau d'arguments de l'analyse conjointe de 8 études épidémiologiques permettant de décrire une relation dose-effet (Anses, 2013). Dans l'objectif d'étudier la relation dose-réponse, les études ont été regroupés en fonction de l'unité d'exposition. Les données pour d'autres indicateurs d'exposition[13] reposant sur une seule étude épidémiologique n'ont pas été développées car il a été privilégié les indicateurs pour lesquelles plusieurs études permettent de comparer les résultats mais aussi de discuter de leur convergence ou divergence.

En intégrant les études transversales, dix-neuf (19) publications portant sur l'association entre l'exposition aux moisissures quantitatives et les symptômes d'asthme ont été identifiées.

Pour les expositions exprimées en flore totale à partir de mesures dans l'air intérieur ($CFU.m^{-3}$), les données épidémiologiques ne mettent pas en évidence de relation significative avec le risque d'asthme en considérant à la fois les données longitudinales et transversales (Figure 8 et Figure 9). La comparaison des niveaux d'exposition dans les études cas-témoins représentée sur la Figure 11 ne met pas en évidence de résultats concordants avec une différence d'exposition dans 3 études sur 6. A noter que les moyennes d'exposition des 3 études ayant une différence d'exposition significative sont supérieures (> 300 $CFU.m^{-3}$) à celles mesurées dans les 3 études non significatives. En considérant les niveaux en *Penicillium* et *Aspergillus*, une relation ressort dans 3 études sur 4 (Figure 10).

Pour les expositions appréhendées à partir de mesures dans les poussières intérieures, les données épidémiologiques reposant sur l'indice ERMI mettent en évidence une relation significative avec le risque d'asthme en considérant à la fois les données longitudinales et la comparaison des niveaux d'exposition à partir des données de suivi des enfants de la cohorte américaine CCAAPS (Figure 14 et Figure 15). Cet indice, développé dans la partie 3.2.3.3, repose sur l'identification de 36 espèces spécifiques, un premier groupe associé aux dégâts des eaux un second pour les espèces retrouvées dans tous les domiciles et représentant la flore extérieure. Des différences de genres et d'espèces identifées dans les études considérant l'exposition via les poussières déposées ressortent dans le Tableau 11. Pour les niveaux en flore totale analysée par culture ($CFU.g^{-1}$ de poussières), la relation entre l'exposition fongique dans les poussières et le risque d'asthme n'est pas significative dans les 2 études longitudinales (Figure 13).

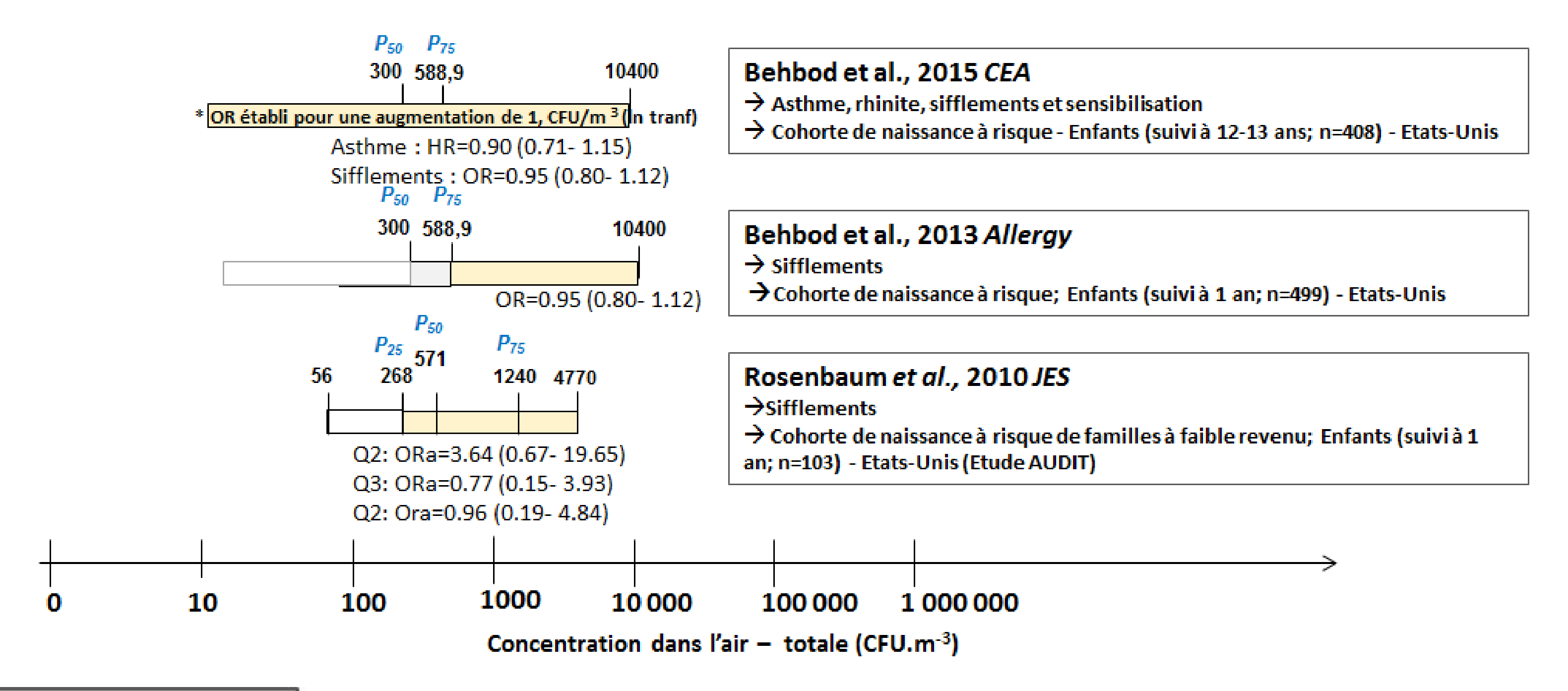
En conclusion, l'analyse globale de ces données confirme la complexité d'établir une relation dose-réponse qui traduit la relation entre la fréquence de survenue de l'asthme dans une population et le niveau d'exposition aux moisissures. En général, une association entre un effet et une exposition est renforcée lorsque le risque de survenue d'un effet augmente avec la dose ou la fréquence de l'exposition. Les effets sur la santé varient selon l'intensité, la voie, la fréquence et la durée de l'exposition mais aussi en fonction de l'espèce, du sexe, de l'âge et de l'état de santé des populations exposées. Ils peuvent être réversibles ou irréversibles, immédiats ou différés.

La variété et la sévérité des effets toxiques observés dans les populations augmentent généralement avec le niveau d'exposition.

Dans le cadre des expositions aux agents microbiens, les difficultés suivantes sont à souligner :

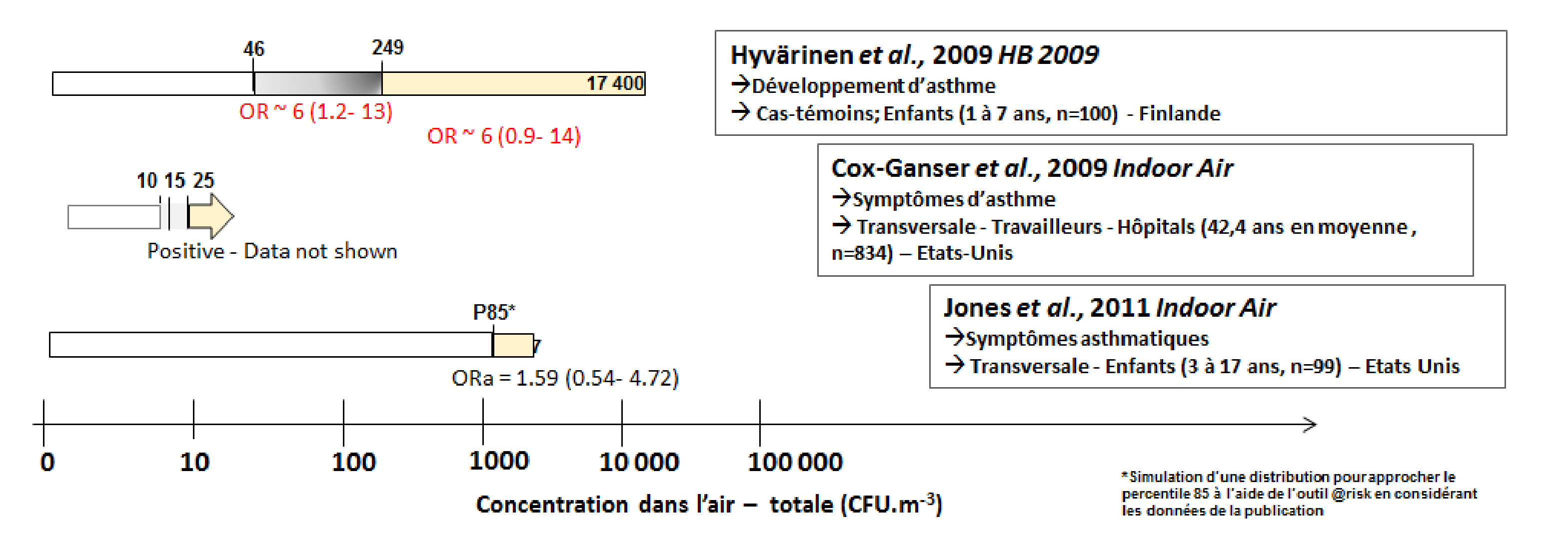
[13] Indice fongique ICF COVm, conidium equivalent.m^{-3}, µg antigène d'Alternaria/g ; CE/g ; Visuel (nb murs moisis) ; Cm² ; Band (SCCP analysis) /OTU

- Caractérisation de l'exposition reposant sur des méthodes qualitatives fournissant aucune données sur la relation dose-réponse et des méthodes quantitatives non standardisées et donc diverses ;
- Variabilité des mécanismes en jeu et de la sensibilité sous-jacentes des individus notamment le terrain génétique dans le cas de symptômes respiratoires qui sont complexes à appréhender dans les résultats des études épidémiologiques.



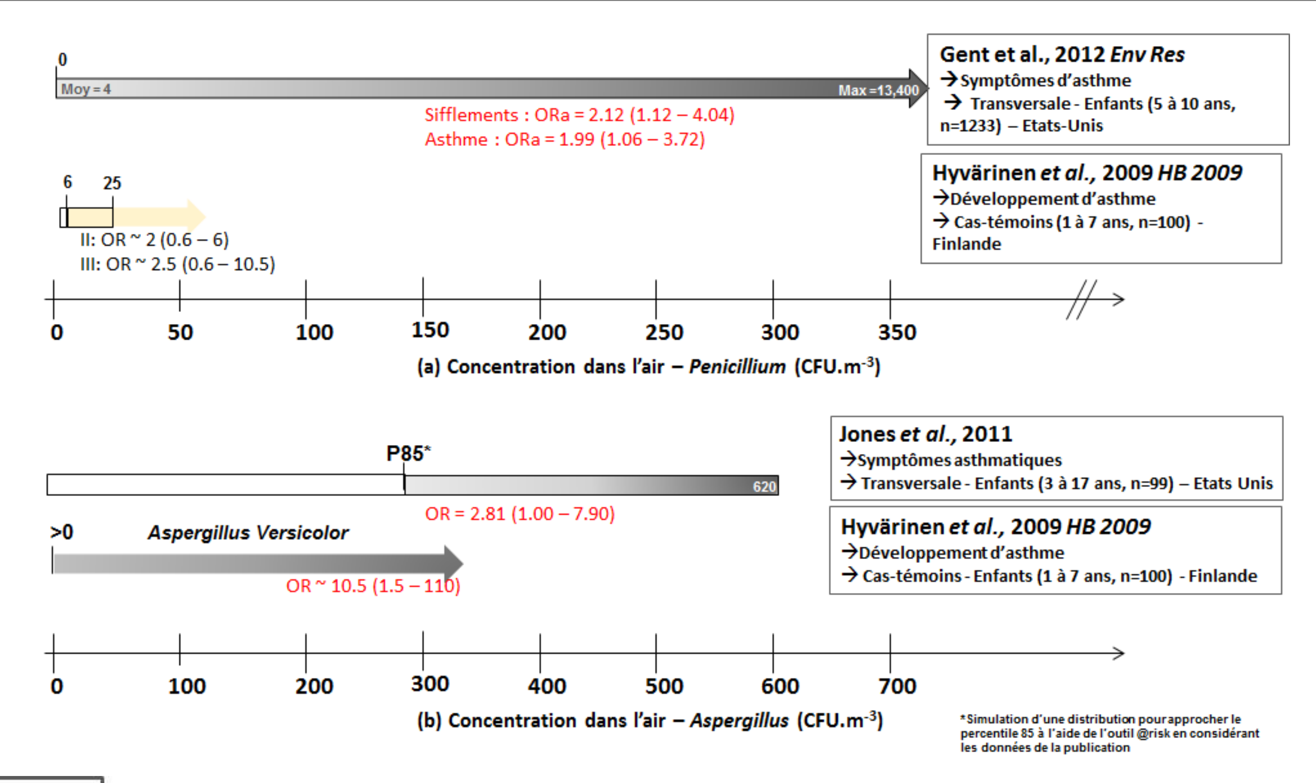
Légende:
- Référence
- Pas d'association significative
- Association significative

Figure 8 : Représentation des données épidémiologiques longitudinales issues de 3 publications intégrant des expositions exprimées en flore totale (CFU.m^{-3}) à partir de mesures dans l'air



Légende:
- Référence
- Pas d'association significative
- Association significative

Figure 9 : Représentation des données épidémiologiques transversales et rétrospectives issues de 3 publications intégrant des expositions exprimées en flore totale (CFU.m^{-3}) à partir de mesures dans l'air



Légende:
- Référence
- Pas d'association significative
- Association significative

Figure 10 : Représentation des données épidémiologiques transversales et rétrospectives issues de 3 publications intégrant des expositions en *Penicillum* (a) ou *Aspergillus ((b)* (CFU.m^{-3}) à partir de mesures dans l'air

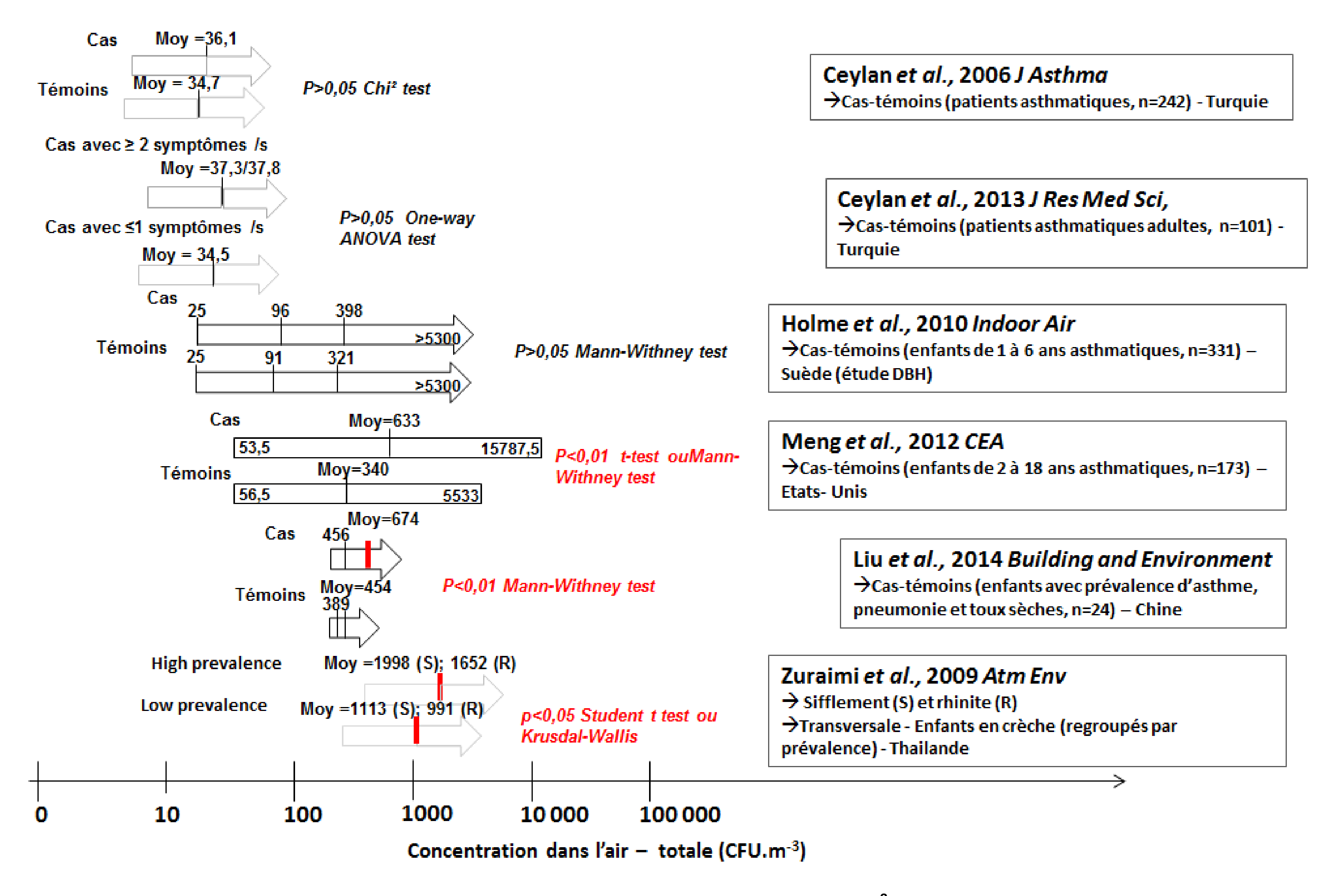


Figure 11 : Représentation des comparaisons d'expositions exprimées en flore totale (CFU.m^{-3}) à partir de mesures dans l'air réalisées dans les études cas-témoins s'intéressant à des personnes asthmatiques

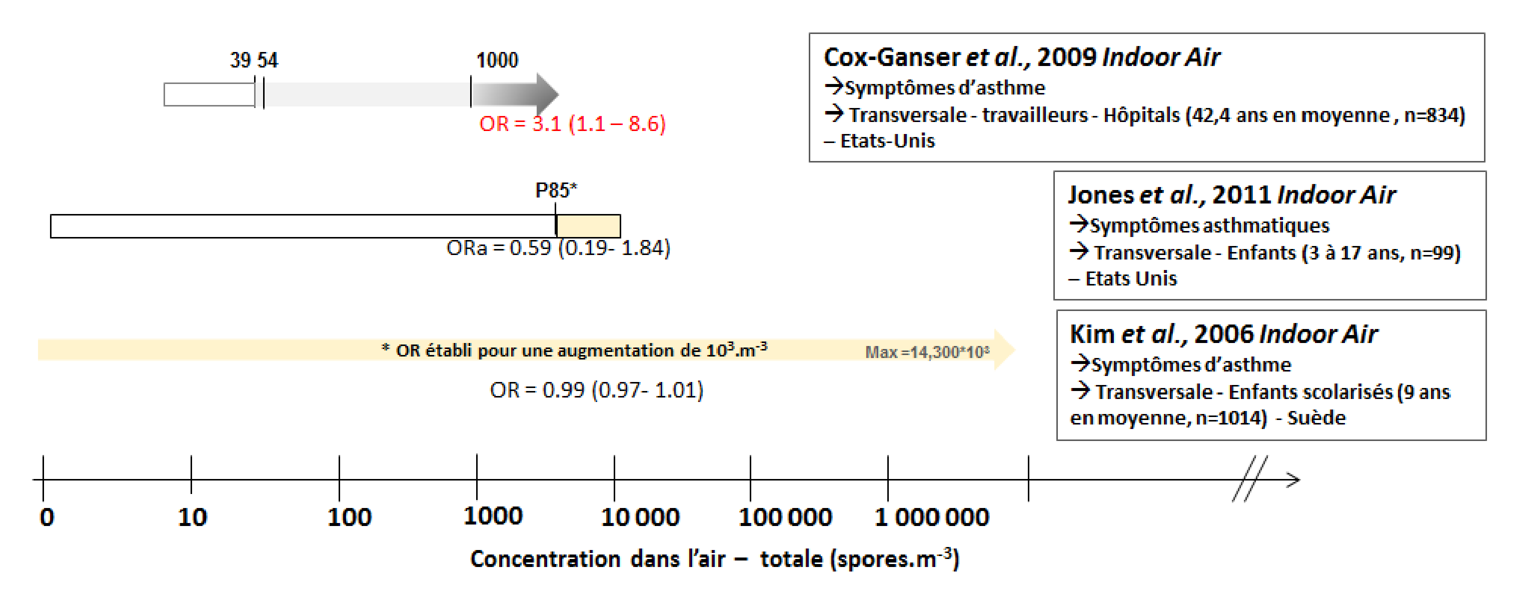
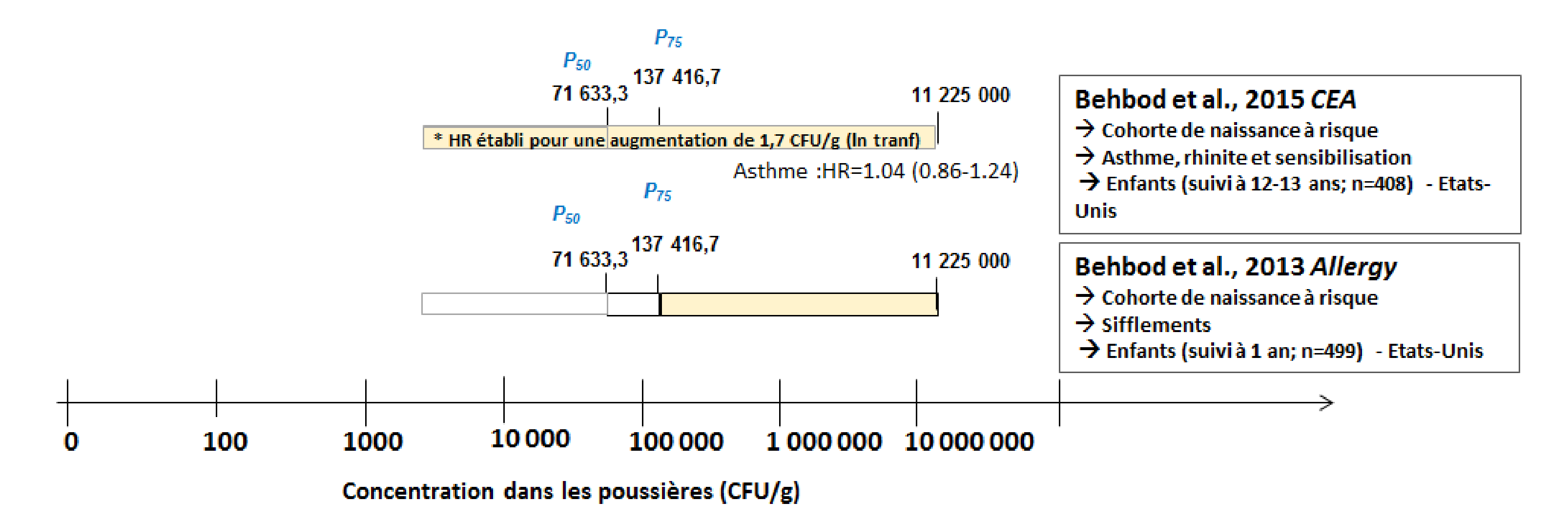


Figure 12 : Représentation des données épidémiologiques transversales issues de 3 publications intégrant des expositions en spore par m³ à partir de mesures dans l'air

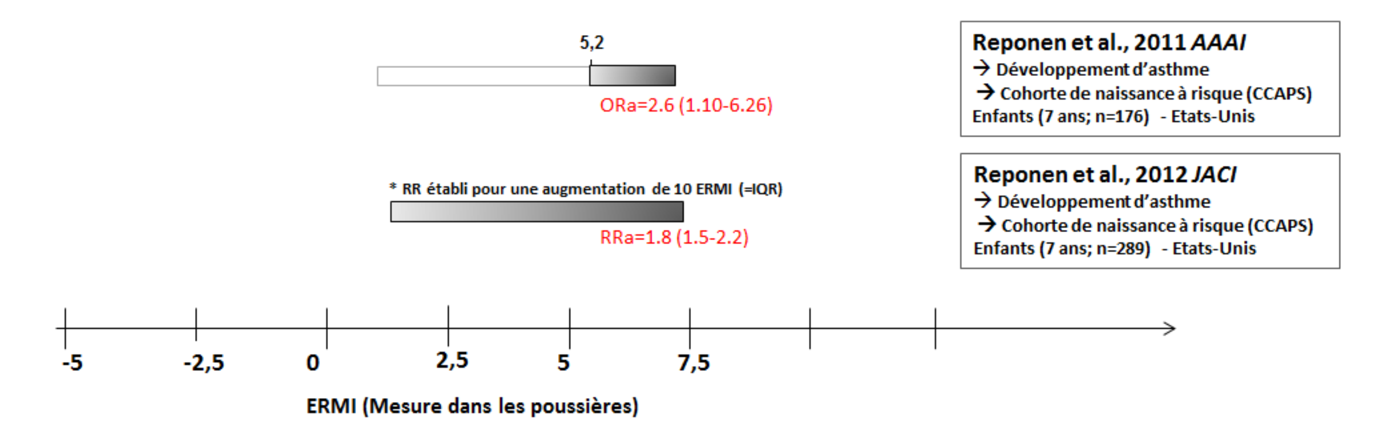
Légende:

- Référence
- Pas d'association significative
- Association significative



Légende:
- Référence
- Pas d'association significative
- Association significative

Figure 13 : Représentation des données épidémiologiques longitudinales issues de 2 publications intégrant des expositions en flore totale (CFU.g^{-1}) à partir de mesures dans les poussières déposées



Légende:
- Référence
- Pas d'association significative
- Association significative

Figure 14 : Représentation des données épidémiologiques longitudinales issues de 2 publications appréhendant l'exposition par l'indice ERMI à partir de mesures dans les poussières déposées

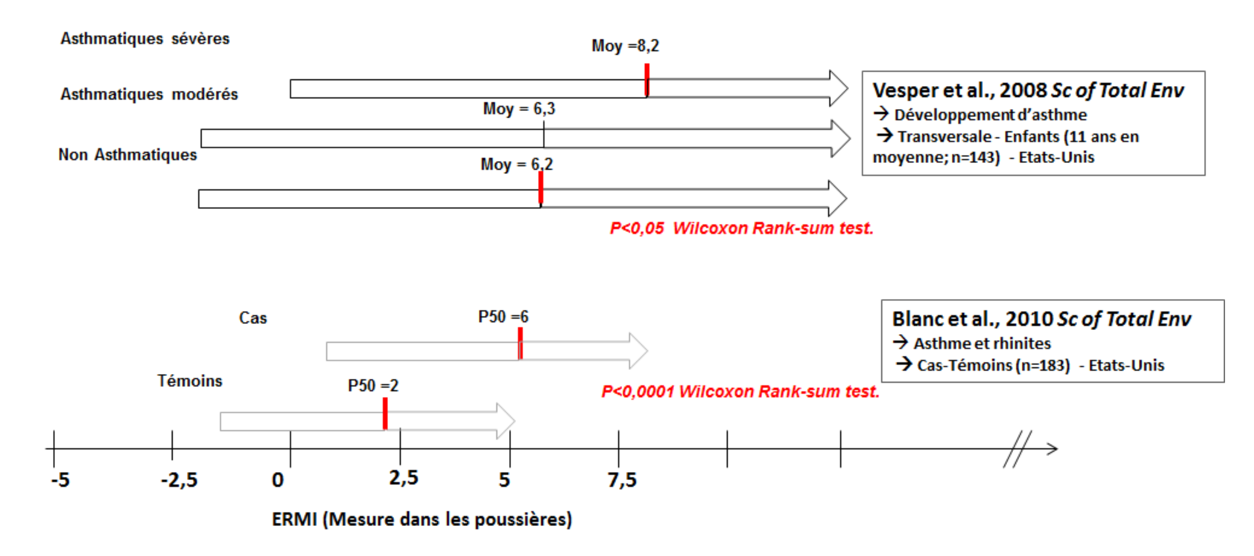


Figure 15 : Représentation des comparaisons d'expositions appréhendées par l'indice ERMI à partir de mesures dans les poussières déposées issues de 2 publications

Tableau 11 : Synthèse des genres ou espèces majoritairement identifiés dans les études épidémiologiques et les résultats d'association entre l'exposition et les symptômes sur la santé

Caractérisation Exposition	Genres ou espèces majoritaires	Résultats	Référence
Mesure dans l'air	Levures > *Aspergillus*> *Penicillium* > *Cladosporium*	NS	Behbod *et al.*, 2013 *Allergy*
		NS	Behbod *et al.*, 2015 *CEA*
	Hyaline unknown> *Bacteria* > *Penicillium*> *Cladosporium*> Levures > *Aspergillus*…	***Penicillium*** **: ORa=6.18 ; $CI_{95\%}$ [1.34-28.46]** *Cladosporium: NS* *Yeast: NS* *Aspergillus: NS*	Rosenbaum *et al.*, 2010 *JES*
	Penicillium sp, Aspergillus sp, Cladosporium, A. versicolor…	*Penicillium sp: NS* *Aspergillus sp: NS* *Cladosporium: NS* ***A. versicolor*****: : ORa=~15; $CI_{95\%}$ [1.5-110]**	Hyvärinen *et al.*, 2009 *HB 2009*
	Cladosporium > *Ascopores* > *Myxomycetes* > *Basidiospores*> *Alternaria* > *Pithomyces*> *Epicoccum*> *Asp/Pen*	*Cladosporium : NA* *Ascopores: NA* *Myxomycetes: NS* *Basidiospores : NS* *Alternaria : NS* *Pithomyces: NS* ***Epicoccum :*** **ORa=2.27; ; $CI_{95\%}$ [1.06-4.83]** *Asp/Pen : NS*	Meng *et al.*, 2012 *CEA*
	Cladosporium > *Sterile fungi*> *Penicillium*> *Aspergillus*> Levures	*Cladosporium : NS* *Sterile fungi : NS* *Penicillium: NS* ***Aspergillus :*** **ORa=6.11 ; $CI_{95\%}$ [1.37-27.89] sans antécédent familial d'asthme** *Yeasts : NS*	Jones *et al.*, 2007 *Indoor Air*
Mesure dans les poussières	Levures > *Aspergillus*> *Penicillium*	**Yeasts : Sifflement OR = 0.88; ; $CI_{95\%}$ [0.80 – 0.96]** ***Aspergillus :*** **Rhinite OR= 1.39; $CI_{95\%}$ [1.11 – 1.74]** *Penicillium : NS* *Cladosporium* : NS	Behbod *et al.*, 2013 *Allergy*
		Yeasts : OR = 0.78; $CI_{95\%}$ [0.66 – 0.92] *Aspergillus : NS* *Penicillium : NS* ***Cladosporium :*** **OR = 1.41; $CI_{95\%}$ [1.13-1.76]**	Behbod *et al.*, 2015 *CEA*
	Aureobasidium pullulans > Cladosporium cladosporioides type 1 > Cladosporium herbarum > Epicoccum nigrum …	*NA*	Reponen *et al.*, 2012 *JACI*
	Aureobasidium pullulans > Cladosporium cladosporioides type 1 > Cladosporium herbarum > Epicoccum nigrum …	*NA*	Vesper *et al.*, 2008 *Sc of Total Env*
	Aureobasidium pullulans > Cladosporium cladosporioides type 1 > Cladosporium herbarum > Epicoccum nigrum **…**	*NA*	Blanc *et al.*, 2010 *Sc of Total Env*

4.3.3.2 Rhinite

4.3.3.2.1 Données issues des méta-analyses et revues systématiques

Les estimations obtenues par méta-analyse sur les relations entre l'exposition aux moisissures ou à l'humidité/moisissures et la rhinite sont résumées dans le Tableau 12.

Tableau 12 : Synthèse des méta-analyses et revues systématiques portant sur l'association entre l'exposition aux moisissures et la rhinite

Etudes	**Exposition**	**Effet considéré et relation avec l'exposition**
Fisk *et al.* (2007) Revue systématique littérature 13 études transversales + longitudinales enfants +adultes	Humidité/moisissures	Symptômes des voies aériennes supérieures OR=1.70 ; $CI_{95\%}$ [1.44-2.00]
Antova *et al.* (2008) Compilation des données de 7 études transversales enfant 6-12 ans	Moisissures visibles	Rhume des foins OR=1.35 ; $CI_{95\%}$ [1.18-1.53]
Tischer *et al.* (2011b) Revue systématique littérature 10 études transversales + longitudinales enfants	Moisissures visibles	Rhinite allergique ou rhume des foins OR=1.39 ; $CI_{95\%}$ [1.28-1.51]
Tischer *et al.* (2011c) Compilation des données de 6 cohortes de naissance	Moisissures visibles et/ou humidité dans les 2 premières années de vie	Rhinite allergique entre 6 et 8 ans (OR=1,12 ; $CI_{95\%}$ [1,02-1,23] entre 3 et 10 ans (OR=1,18 ; $CI_{95\%}$ [1,09-1,28]
Jaakkola *et al.* (2013) Revue systématique littérature 12 études transversales + longitudinales	Moisissures visibles	Rhinite allergique EE = 1,51 ; $CI_{95\%}$ [1,39-1 ,64].

En 2007, Fisk *et al.* (2007) ont réalisé une méta-analyse regroupant toutes les études (transversales ou longitudinales) ayant porté sur la rhinite, le rhume des foins, la sinusite, ou tous symptômes de nez « irrité », « bouché » ou « qui coule ». L'exposition considérée regroupait la présence d'humidité ou de moisissure visibles, sans distinction plus précise. L'odds-ratio obtenu par méta-analyse à partir des 13 études retenues indiquait une relation significative entre l'humidité du logement et les symptômes de l'appareil respiratoire supérieur, avec un OR=1,70 ; $CI_{95\%}$ [1,44-2,00]. Bien que dans la plupart des études, la présence d'humidité était rapportée par le sujet enquêté, les auteurs citent différentes études de validation des questionnaires et concluent qu'il est peu probable que les relations observées aient été biaisées par une surdéclaration de la présence d'humidité par les personnes symptomatiques. Enfin, les données publiées ne semblaient pas indiquer l'existence d'un biais de publication majeur.

Dans le cadre du consortium PATY (Antova, 2008), combinant les données de 7 études transversales, réalisées chez l'enfant de 6 à 12 ans dans différentes régions du monde, la présence de moisissures visibles dans le logement était associée à une augmentation du risque de rhume des foins, avec un OR=1.35 ; $CI_{95\%}$ [1.18-1.53], après ajustement sur de nombreux facteurs socio-démographiques. Les résultats des différentes études étaient relativement homogènes (sur les 7 odds-ratios intégrés dans l'analyse, 5 ORs étaient>1 (3 significativement) ; un OR=1 ; et un OR<1 (non-significatif); p de test d'hétérogénéité p=0.20).

L'étude qualitative de Mendell (Mendell, 2011), couvrant les publications jusqu'en 2009 signale des nouvelles données de la littérature mais ne quantifie pas la force de la relation. Les auteurs

concluent à un niveau de preuve suffisant pour l'existence d'une association avec la présence d'humidité ou de moisissures à l'intérieur du logement et les symptômes des voies aériennes supérieures, et la rhinite allergique. Les données disponibles ne permettent toutefois pas de conclure à l'existence d'une relation causale. Les auteurs soulignent notamment l'impossibilité de préciser les expositions microbiennes impliquées causalement, et l'insuffisance de données sur les relations doses-réponses pour définir des niveaux d'exposition seuil.

Des critères d'exposition plus spécifiques ont été utilisés dans la revue systématique réalisée par Tischer *et al.* qui couvre les articles publiés jusqu'en juillet 2010, chez les enfants uniquement (Tischer, 2011b). Les résultats de la méta-analyse indiquent que l'exposition aux « moisissures visibles » est associée à une augmentation du risque d'asthme, de sifflements et de rhinite chez l'enfant, avec un OR=1.39 ; $CI_{95\%}$ [1.28-1.51], basé sur 10 études, pour la rhinite allergique. A l'inverse, la revue suggérait une diminution du risque de rhinite allergique, chez les enfants exposés aux composants dérivés des moisissures, tels que les EPS. La représentation des données selon un graphique en entonnoir (« funnel plot ») suggérait un taux de publications plus important des études montrant des associations positives entre l'exposition aux moisissures et la rhinite allergique (biais de publication). Dans l'analyse selon le type d'études, les données provenant des cohortes de naissance (3 études : Tischer 2011c ; Biagini 2006 ; Stark 2005) n'indiquaient pas d'association entre l'exposition aux moisissures visibles et la rhinite allergique, tandis que la seule étude sur le niveau d'exposition aux spores de moisissures montrait une augmentation du risque pour certaines espèces (***Alternaria, Aspergillus, et Aureobasidium***). Les données des études cas-témoins ne mettaient pas non plus en évidence de relation avec l'exposition aux moisissures visibles, mais montraient une augmentation du risque de rhinite allergique en cas d'exposition élevée à certaines espèces (***Cladosporium et Penicillium***). Enfin, pour les études transversales, les auteurs notaient une meilleure cohérence des résultats pour l'asthme que pour la rhinite allergique. En effet, pour la rhinite, alors que 2 études montraient une augmentation significative du risque associée à l'exposition aux moisissures visibles, 6 autres études ne mettaient pas en évidence de relation significative. Les auteurs concluaient que l'exposition aux moisissures augmentait le risque de symptômes respiratoires allergiques, mais soulignaient la nécessité de mener des recherches plus spécifiques pour appréhender les différents effets associés à l'exposition microbienne globale.

Dans le cadre du consortium ENRIECO, les données de 6 cohortes de naissances européennes ont été analysées (Tischer, 2011c). Après prise en compte de différents facteurs de confusion potentiels dont le niveau d'éducation des parents comme proxi du statut socio-économique, l'exposition à des moisissures visibles et/ou à l'humidité dans les 2 premières années de vie, était associée à une augmentation du risque de rhinite allergique entre 3 et 10 ans (OR=1,18 ; $CI_{95\%}$ [1 ,09-1,28]). Les résultats étaient relativement homogènes sur les 6 cohortes, avec des ORajustés>1 et significatifs pour 3 des 6 cohortes. Cette étude représente la plus grande étude sur les relations entre l'exposition à l'humidité dans l'enfance et le risque de symptômes allergiques, avec des données individuelles d'enfants suivis dans des cohortes de naissance. Le design prospectif de ces cohortes est particulièrement pertinent pour étudier la temporalité de la relation entre l'exposition aux moisissures et le développement des symptômes.

En 2013, Jaakkola *et al.* ont réalisé une nouvelle méta-analyse, incluant les articles publiés jusqu'en août 2012, et considérant différents indices d'exposition plus ou moins spécifiques (Jaakkola, 2013). Le tableau ci-dessous résume les résultats obtenus pour la rhinite et la rhinite allergique. L'estimation la plus élevée de l'effet de l'exposition (EE) était obtenue pour « l'odeur de moisi », mais cette estimation était basée sur 3 ou 4 études uniquement. Pour la « présence de moisissures visibles », 12 études portaient sur la rhinite allergique et donnaient des résultats relativement homogènes, avec un EE à 1,51 ; $CI_{95\%}$ [1,39-1,64]. La plupart des études étaient transversales. Alors que 4 des 12 EEs considérés pour la méta-analyse provenaient d'études de cohorte, un seul portait sur l'exposition aux moisissures mesurée avant l'apparition de la rhinite. Cet EE provenait de l'étude de Stark de 2005, qui montrait une association entre les niveaux de moisissures dans la poussière de maison dans les 3 premiers mois de la vie, et un diagnostic de rhinite avant les 5 ans de l'enfant, avec notamment un Hazard Ratio (HR)=3,27 $CI_{95\%}$ [1,50-7,14]

pour un niveau élevé d'*Aspergillus*, un HR=3,04 ; $CI_{95\%}$ [1,33–6,93] pour *Aureobasidium*, et un HR= 2,67 ; $CI_{95\%}$ [1,26–5,66] pour les levures, dans le modèle de Cox multivarié.

Résultats de la méta-analyse de Jaakkola (2013)		
	Rhinite	**Rhinite allergique**
Humidité		
Nombre d'études	6	6
EE combiné	1,82 [1,34-2,46]	1,50 [1,38-1,62]
Hétérogénéité entre les différentes études	Htrgt modérée; p=0.10 EEs tous >1, 4/6 significatifs	Légère Htrgt (p=0.2). EEs tous >1, 6/6 significatifs
Biais de publication (Funnel plot)	Pas d'indication de biais de publication	Pas d'indication de biais de publication
Moisissures Visibles		
Nombre d'études	5	12
EE combiné	1,82 [1,56-2,12]	1,51 [1,39-1 ,64]
Hétérogénéité entre les différentes études	Pas d'hétérogénéité EEs tous >1, 4/5 significatifs	Pas d'hétérogénéité EEs tous >1, 6/12 significatifs
Biais de publication (Funnel plot)	Pas d'indication de biais de publication	Non précisé
Odeur de Moisi		
Nombre d'études	4	3
EE combiné	2,18 [1,76-2,71]	1,87 [0,95-3,68]
Hétérogénéité entre les différentes études	(pas d'hétérogénéité). EEs tous >1, 4/4 significatifs	Forte hétérogénéité (p<0,001) EEs tous >1, 2/3 significatifs
Biais de publication (Funnel plot)	Non précisé	Non précisé

Ainsi, les revues de la littérature indiquent clairement l'existence d'une relation entre l'exposition aux moisissures et la rhinite allergique, avec des OR>1.35 indiquant une augmentation du risque de rhinite chez les personnes exposées aux moisissures. Toutefois, la plupart des études qui utilisent des indicateurs d'exposition portant spécifiquement sur les moisissures sont des études transversales. Les quelques études longitudinales portaient généralement sur l'exposition « aux moisissures et/ou à l'humidité ». Enfin, certaines études font état d'une diminution du risque de rhinite liée à l'exposition à certains composants dérivés des moisissures chez l'enfant.

4.3.3.2.2 Données d'études longitudinales

Deux analyses de la cohorte CCAAPS ont porté sur les relations entre l'exposition aux moisissures et la rhinite, chez le jeune enfant. Biagini *et al.* (2006) n'identifient pas de relation entre la présence de moisissures visibles (notée par un enquêteur) et le risque de rhinite allergique rapportée par les parents sur les carnets mensuels, avant les 12 mois de l'enfant. En revanche, l'exposition aux moisissures était associée à une augmentation du risque d'infections oto-rhino. Les auteurs n'ont pas trouvé d'interactions entre l'exposition aux moisissures et l'exposition à la fumée de tabac, qui était un facteur de risque pour la rhinite allergique. Osborne *et al.* (2006) ont quantifié l'exposition aux moisissures en dénombrant les spores fongiques (totales et spécifiques) d'un prélèvement d'air de longue durée (48 heures). Il n'y avait pas de relation entre la numération de spores totales et la sensibilisation atopique, et une relation à la limite de la signification pour la rhinite. L'analyse selon les genres spécifiques montrait des relations soit positives (spores de type

Penicillium/Aspergillus, Alternaria) soit négatives (*Cladosporium*) avec la sensibilisation atopique. Il n'y avait pas de relation avec la sensibilisation aux moisissures (16% des enfants). Une relation significative était observée entre les basidiospores et la rhinite. Les associations pour la rhinite allergique (rhinite associée à un test cutané positif) n'étaient pas significatives mais le nombre d'enfants ayant une rhinite « allergique » n'est pas précisé. Les auteurs interprètent les relations négatives comme un possible effet protecteur de l'exposition aux moisissures sur le système immunitaire. Ces relations négatives pourraient aussi refléter l'effet spécifique de certaines espèces, ou pourraient être le fruit du hasard. Enfin, toujours selon les auteurs, la combinaison des effets positifs et des effets négatifs pourrait expliquer l'absence d'association significative avec l'exposition « totale ».

Jaakkola *et al.* (2010) ont étudié le risque de développer une rhinite, dans une étude longitudinale sur 6 ans chez des d'enfants sans rhinite à l'inclusion. Les enfants exposés à un problème d'humidité à l'inclusion (variable cumulant l'exposition aux moisissures, à l'humidité ou un dégât des eaux), avaient un risque augmenté de 50% d'avoir développé une rhinite au cours du suivi, et ceux qui étaient exposés à l'inclusion et au suivi avaient 100% plus de risque de développer une rhinite. En regardant plus spécifiquement les différentes variables d'exposition, le dégât des eaux était le déterminant le plus important pour la rhinite, et cette relation était encore plus forte chez les enfants de parents allergiques. La présence de moisissures visibles dans le logement à l'inclusion n'était pas associée au développement de la rhinite, ce qui d'après les auteurs pourrait s'expliquer par une prise en charge rapide de ce problème de moisissures, et la diminution de l'exposition dès le début du suivi. En revanche, la présence de moisissures au suivi était associée à l'incidence de la rhinite. Trop peu de sujets avaient des moisissures visibles à l'inclusion et au suivi pour étudier l'effet de l'exposition à long terme.

Behbod *et al.* (2015) ont récemment publié un article sur les relations entre l'exposition précoce aux moisissures et levures, et le risque de développer de l'asthme, de la rhinite ou d'être sensibilisé à l'âge de 12 ans, dans une cohorte de 406 enfants de mère allergique, aux Etats-Unis. Pour l'asthme, des résultats contrastés étaient observés pour les levures dans la poussière (protecteur) et pour les champignons (*Alternaria* et *Cladosporium*) (associés à une augmentation du risque). Pour la rhinite, l'exposition précoce à des niveaux élevés d'*Aspergillus* dans la poussière de la chambre était associée au développement de la rhinite. Pour la sensibilisation allergique (dans un sous-échantillon ; N=265), des niveaux élevés de levures étaient associés à un risque moindre de sensibilisation aux moisissures à l'âge de 12 ans. Il n'y avait pas d'association entre les moisissures totales dans l'air intérieur ou dans la poussière et le risque de sensibilisation sur l'ensemble de l'échantillon. En revanche, le risque d'être sensibilisé à l'âge de 12 ans était plus élevé chez les enfants exposés dont la mère était sensibilisée aux moisissures.

Enfin, dans un panel de 19 enfants monosensibilisés aux moisissures ayant une rhinite allergique, Inal *et al.* (2007) n'ont pas identifié de relation entre les concentrations en moisissures de l'air intérieur et la sévérité des symptômes. Les auteurs soulignent les concentrations relativement basses mesurées dans leur étude, par rapport aux niveaux observés dans d'autres pays, et suggèrent que les recommandations faites aux patients pour limiter les moisissures puissent expliquer ces niveaux très bas.

Ainsi, les quelques études longitudinales sur la rhinite allergique ne permettent pas à ce jour de conclure à la présence ou à l'absence d'une augmentation du risque de rhinite liée à l'exposition aux moisissures. D'autres études seront notamment nécessaires pour conclure quant au rôle de l'exposition aux différents composants fongiques.

Tableau 13 : Synthèse des données des études longitudinales ayant analysé l'association entre l'exposition aux moisissures et la rhinite allergique

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Biagini *et al.* (2006) *Pediatr Allergy Immunol*	Cohorte de naissance à risque (au moins 1 parent avec 1 test cutané positif (SPT +)) Etats-Unis (CCAAPS) N=663 Enfants de moins d'un an	Surface totale moisie pour classification en 3 catégories Visite du domicile par un enquêteur, 3 semaines après l'inclusion.	Infections oto-rhino = au moins une infection des sinus ou des oreilles avec prise d'antibiotiques. Rhinite (éternuements, nez qui coule ou bouché en dehors d'un rhume). Rhinite « allergique » si associée à un TC+ à l'examen au 12 mois. Carnet mensuel complété par les parents avant la visite des 12 mois. Questionnaire aux parents à l'inclusion à 7,5 (±2,4) mois et examen à 12 mois.	**OR pour rhinite allergique selon exposition aux moisissures visibles** Non exposé (n=259) 1.0 (ref) Faible (n=303) 1.2 ; $CI_{95\%}$ [0.6-2.5] **ns** Elevée (n=23) 3.2 ; $CI_{95\%}$ [0.7-14.8] **ns** **OR pour infections oto-rhino selon exposition aux moisissures visibles** Non exposé (n=259) 1.0 (ref) Faible (n=303) **1.5 ; $CI_{95\%}$ [1.01 - 2.3]** Elevée (n=23) **5.1 ; $CI_{95\%}$ [2.2 - 12.0]**
Osborne *et al.* (2006) *Pediatr Allergy Immunol*	Cohorte de naissance à risque (au moins 1 parent avec 1 test cutané positif (SPT +)) Etats-Unis (CCAAPS) N=144 Enfants de 1 à 3 ans	Mesure dans l'air intérieur (pièce principale) : Prélèvement individuel (SKC), 4 L/min sur 48 h Comptage des spores fongiques totales et identification par genres (LOD= 2 spores/m3) Visite du logement (effectuée dans les 8 mois autour de l'examen clinique)	Tests cutanés (2 trophaller-gènes + 15 pneum-allergènes) Rhinite (éternuement, nez qui coule ou bouché en dehors des rhumes) Questionnaire administré par le médecin aux parents, à l'âge de 13 mois	<u>**Espèces associées aux tests cutanés**</u> <u>troph+pneum (sens de l'association), p</u> ***Alternaria*** (+)p=0.01 ***Ganoderma*** (-)p=0.10 ***Basidiospores***(-)p=0.09 ***Penicillium/Aspergillus***(+)p=0.01 ***Cladosporium***(-)p=0.04 <u>pneumallergènes</u> ***Ganoderma***(-)p=0.07 ***Penicillium/Aspergillus*** (+)p=0.10 ***Cladosporium***(-)p=0.03 <u>**Espèces associées à la rhinite**</u> **Total concentration**(+)p=0.10 ***Alternaria***(-)p=0.10 ***Ganoderma***(+)p=0.06 ***Basidiospores***(+)p=0.01

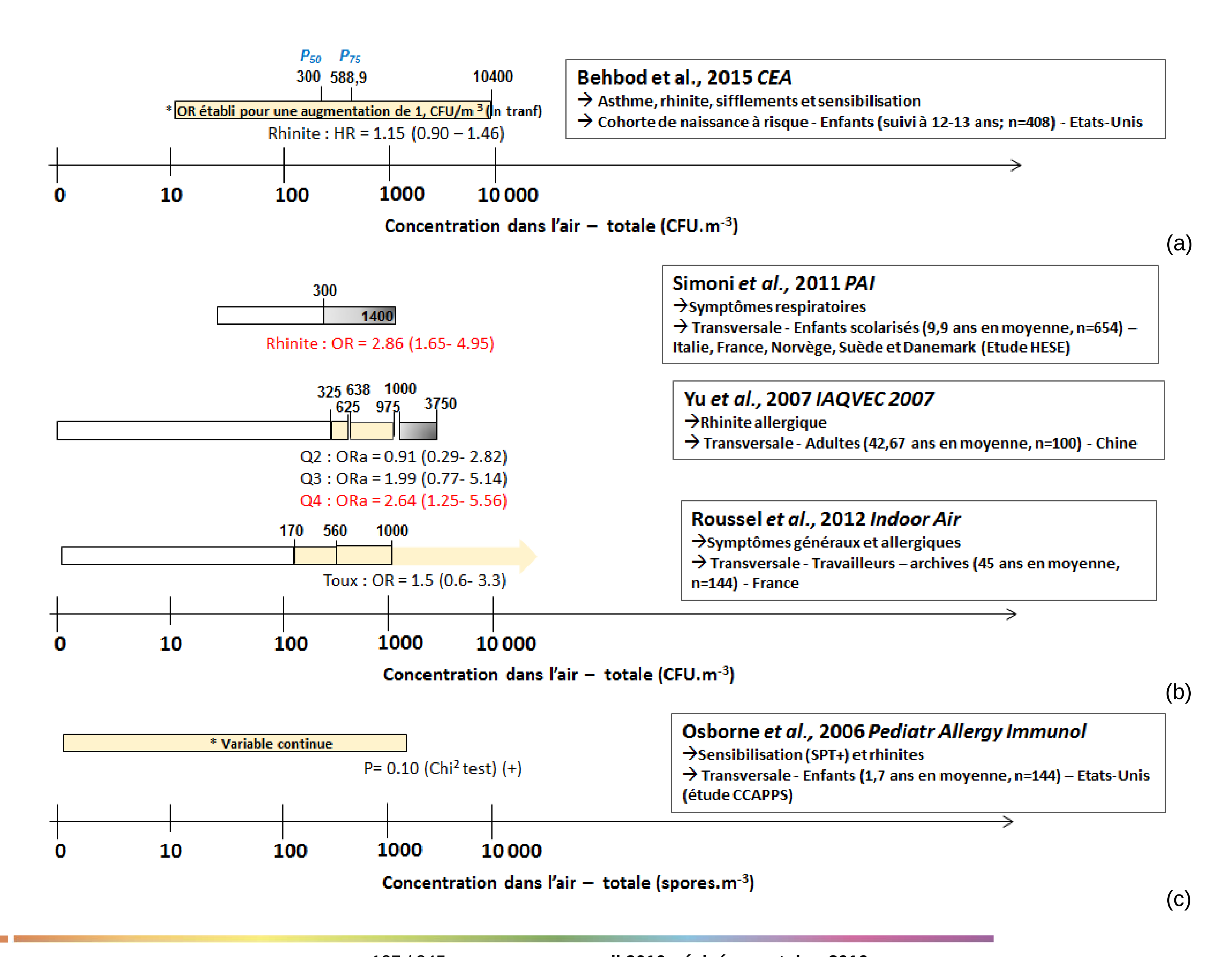
Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Jaakkola *et al.* (2010) *Am J Epidemiol*	Cohorte prospective en population générale Finlande - Espoo N =1,863 Enfants de 1 à 7 ans sans rhinite à l'inclusion (1991),	Exposition spécifique : dégât des eaux, tâches d'humidité, moisissures visibles, ou odeur de moisi dans la maison, et exposition globale (au moins une exposition parmi les indicateurs ci-dessus) Questionnaire rempli par les parents (à l'inclusion et au suivi).	Rhinite au suivi à 6 ans (n=246 cas incidents): rhinite diagnostiqué par un médecin, rapporté au questionnaire de fin de suivi chez les enfants sans rhinite à l'inclusion	Nombre de sujets exposés (n) et **OR pour le développement d'une rhinite** suivant l'exposition à l'inclusion, au suivi ou aux 2 (Inc+suiv) par rapport aux sujets jamais exposés **Moisissures visibles *** inclusion (n=80) 1.06 ; $CI_{95\%}$ [0.51-2.21] suivi (n=204) **1.98 ; $CI_{95\%}$ [1.32-2.99]** **Odeur de moisi * :** inclusion (n=51) 0.94 ; $CI_{95\%}$ [0.36-2.45] suivi (n=160) 1.45 ; $CI_{95\%}$ [0.89-2.37] **Exposition globale humidité** **inclusion (n=366) 1.55 ; $CI_{95\%}$ [1.10-2.18]** **suivi (n=546) 1.62 ; $CI_{95\%}$ [1.21-2.18]** **Inc+suiv (n=188) 1.96 ; $CI_{95\%}$ [1.29-2.98]** * pour l'exposition aux moisissures, pas assez de sujets exposés aux 2 questionnaires (≤3 cas incidents)
Behbod *et al.* (2015) *Clin Exp Allergy*	Cohorte de naissance à risque (Histoire maternelle d'asthme ou d'allergie) Etats-Unis - Boston N = 406 Enfants dont 285 avec des données de sensibilisation allergique à 7 ou 12 ans	**- Mesure** dans l'air intérieur et extérieur : DG18; 1 min, 45lpm Analyse par culture Espèces fongiques Inspection à 2-3 mois Moisissures, Humidité visibles, dégâts des eaux (chambre de l'enfant) rapportés par les parents	Associations entre exposition fongique/humidité dans la petite enfance et sifflements, développement d'asthme, développement de rhinite et sensibilisation allergique à l'âge de 12/13 ans	**HR pour la rhinite** (modèle de Cox) Logement humide 1.11 ; $CI_{95\%}$ [0.73-1.68] Exposition / Poussière chambre : Alternaria 0.79 ; $CI_{95\%}$ [0.51-1.22] Cladosporium 0.91 ; $CI_{95\%}$ [0.77-1.08] **Aspergillus 1.39 ; $CI_{95\%}$ [1.11-1.74]** Peniccillium 1.04 ; $CI_{95\%}$ [0.89-1.21] Levures 1.06 ; $CI_{95\%}$ [0.92-1.22] Moisissures non sporulantes 1.05 ; $CI_{95\%}$ [0.88-1.25] **OR pour sensibilisation aux moisissures**

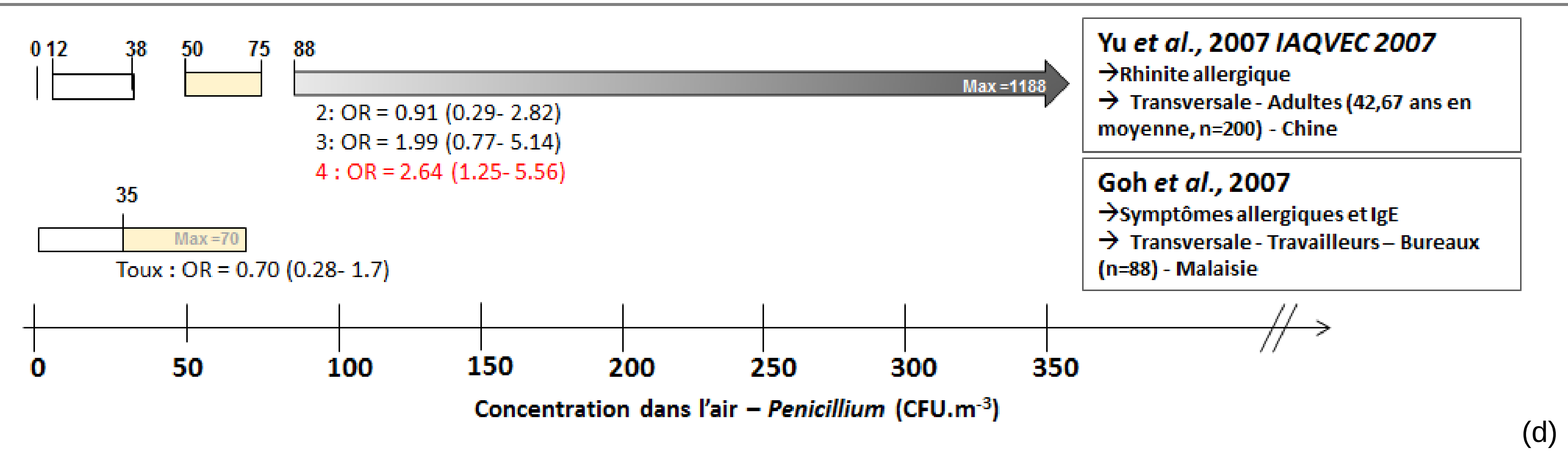
Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
				Logement humide 1.66 ; $CI_{95\%}$ [0.84-3.28] Exposition / Poussière chambre : **Levure 0.82 ; $CI_{95\%}$ [0.66-1.01]** Si mère sensibilisée aux moisissures **Alternaria 4.77 ;** $CI_{95\%}$ **[1.55-14.68]** Cladosporium 1.33 ; $CI_{95\%}$ [0.94-1.87] Si mère non sensibilisée Alternaria 1.29 ; $CI_{95\%}$ [0.60-2.78] Cladosporium 1.01 ; $CI_{95\%}$ [0.76-1.33]
Inal *et al.* (2007) *J Asthma*	Etude de panel Turquie, N = 19 Enfants de 4 à 13 ans monosensibilisés aux moisissures, avec rhinite seule (n=2) ou asthme + rhinite (n=17)	Mesure dans l'air intérieur tous les mois (Février 2005 à Janvier 2006) : Impacteur sur gelose MAS-100 (Merck), 100 L/min Niveaux fongiques en CFU/m^3	Score de symptômes de rhinite, d'asthme sur carnet journalier et DEP matin et DEP soir	**Aucune correlation significative entre les concentrations de moisissures totales ou spécifiques** (*Cladosporium, Alternaria, Penicillium, Aspergillus*) mesurées tous les mois **et les scores de symptômes journaliers de rhinite ou d'asthme, ni avec le débit expiratoire de pointe** NB : exposition relativement basse par rapport à d'autres pays.

4.3.3.2.3 Relation dose-réponse et niveaux d'exposition

En intégrant les études transversales, neuf (9) publications portant sur l'association entre l'exposition aux moisissures quantitatives et les symptômes de rhinite allergique ont été identifiées pour discuter de la relation dose-réponse (Figure 16).

Les données disponibles ne sont pas concordantes et confirment la difficulté de conclure sur la présence ou à l'absence d'une augmentation du risque de rhinite liée à l'exposition quantitative aux moisissures ainsi que la définition d'un seuil associé.


P50 P75
300 588,9 10400
* OR établi pour une augmentation de 1, CFU/m3 (In tranf)
Rhinite : HR = 1.15 (0.90 – 1.46)
Behbod et al., 2015 CEA
→ Asthme, rhinite, sifflements et sensibilisation
→ Cohorte de naissance à risque - Enfants (suivi à 12-13 ans; n=408) - Etats-Unis
0 10 100 1000 10 000
Concentration dans l'air – totale (CFU.m-3)
(a)
300
1400
Rhinite : OR = 2.86 (1.65- 4.95)
Simoni et al., 2011 PAI
→Symptômes respiratoires
→ Transversale - Enfants scolarisés (9,9 ans en moyenne, n=654) – Italie, France, Norvège, Suède et Danemark (Etude HESE)
325 638 1000
625 975 3750
Q2 : ORa = 0.91 (0.29- 2.82)
Q3 : ORa = 1.99 (0.77- 5.14)
Q4 : ORa = 2.64 (1.25- 5.56)
Yu et al., 2007 IAQVEC 2007
→Rhinite allergique
→ Transversale - Adultes (42,67 ans en moyenne, n=100) - Chine
170 560 1000
Toux : OR = 1.5 (0.6- 3.3)
Roussel et al., 2012 Indoor Air
→Symptômes généraux et allergiques
→ Transversale - Travailleurs – archives (45 ans en moyenne, n=144) - France
0 10 100 1000 10 000
Concentration dans l'air – totale (CFU.m-3)
(b)
* Variable continue
P= 0.10 (Chi2 test) (+)
Osborne et al., 2006 Pediatr Allergy Immunol
→Sensibilisation (SPT+) et rhinites
→ Transversale - Enfants (1,7 ans en moyenne, n=144) – Etats-Unis (étude CCAPPS)
0 10 100 1000 10 000
Concentration dans l'air – totale (spores.m-3)
(c)



(d)

Figure 16 : Représentation des données épidémiologiques décrivant une relation dose-réponse entre l'exposition fongique (concentration en flore totale dans l'air intérieur en CFU.m^{-3} (a) et (b), concentration en nombre totale de spores par m^{3} (c) et concentration en Penicillium en CFU.m^{-3} (d)) et le risque de rhinite allergique

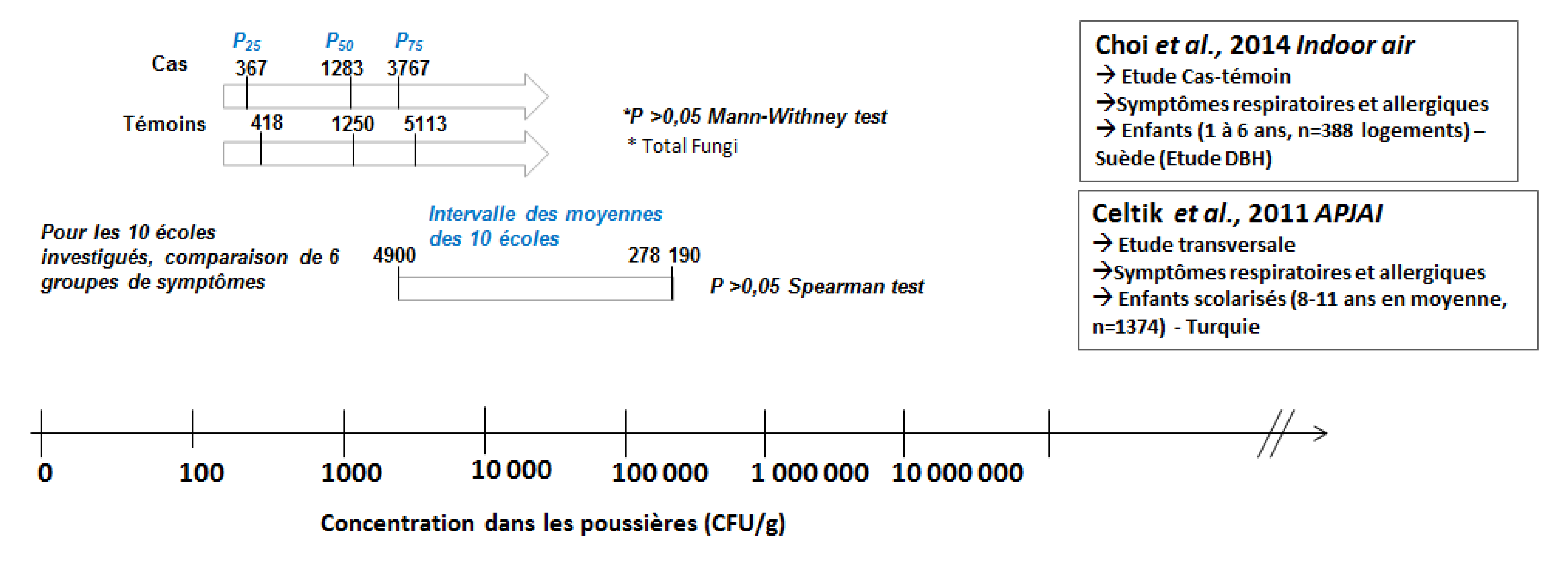


Figure 17 : Représentation des comparaisons d'expositions à partir de mesures dans les poussières déposées

Tableau 14 : Synthèse des genres ou espèces majoritairement identifiés dans les études épidémiologiques et les résultats d'association entre l'exposition et les symptômes sur la santé

Caractérisation Exposition	Genres ou espèces majoritaires	Résultats	Référence
Mesure dans l'air	Levures > *Aspergillus> Penicillium > Cladosporium*	NS	Behbod *et al.*, 2015 *CEA*
	Cladosporium > Penicillium> Aspergillus> Alternaria > Streptomyces (Fq)	***A. versicolor :*** **Toux nocturne ORa = 1.32 ; $CI_{95\%}$ [1.00 – 1.73]** **Rhinite ORa =1.83 ; $CI_{95\%}$ [1.38 – 2.43]** **Toux ORa = 1.76 ; $CI_{95\%}$ [1.29 – 2.39]** **Asp/Pen : Toux nocturne ORa = 1.32 ; $CI_{95\%}$ [1.00 – 1.73]** **Sifflement ORa =2.17 ; $CI_{95\%}$ [1.06 – 4.42]** **Toux ORa = 1.76 ; $CI_{95\%}$ [1.29 – 2.39]** *Streptomyces : NS*	Simoni *et al.*, 2011 *PAI*
	Cladosporium > Sterile fungi> Penicillium> Aspergillus> Levures	*Cladosporium : NS* *Sterile fungi : NS* *Penicillium: NS* ***Aspergillus :*** **ORa=6.11 ; $CI_{95\%}$ [1.37-27.89] sans antécédent familial d'asthme** *Yeasts : NS*	Jones *et al.*, 2007 *Indoor Air*
	Penicillium chysogenum> Cladosporium sphaerospermum> Aspergillus versicolor>Rhodotorula sp> Levures … *(Fq)*	*NA*	Roussel *et al.*, 2012 *Indoor Air*
	Penicillium > Yeasts > Alternaria > Aspergillus…	*NA*	Choi *et al.*, 2014 *Indoor air*
Mesure dans les poussières	*Cladosporium > Penicillium > Alternaria> Aspergillus…*	*NA*	Celtik *et al.*, 2011 *APJAI*

4.3.4 Syndrome du bâtiment malsain, effets neurologiques et psychologiques

4.3.4.1 Syndrome du bâtiment malsain

Le Syndrome du Bâtiment Malsain a été officiellement défini comme objet de santé publique par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en 1983. Le syndrome des bâtiments malsains ou « Sick Building Syndrom » (SBS) est un ensemble de symptômes non spécifiques touchant la peau, les muqueuses, le système respiratoire et/ou le système nerveux central. Les symptômes surviennent de façon isolée ou en association et sont reliés au bâtiment. La définition adoptée par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) (OMS, 1983) est la suivante :

- Symptômes généraux : fatigue, tête lourde, céphalée, nausée, vertiges et difficultés de concentration
- Symptômes affectant les muqueuses : démangeaisons, sensations de brûlure, irritation des yeux, nez irrité, bouché ou qui coule, gorge sèche et rauque, et toux
- Symptômes affectant la peau : peau du visage sèche ou rouge, démangeaisons, sensation de brûlure ou de pression sur le visage.

Les exacerbations d'affections cutanées ou respiratoires sont également incluses. Ce concept a été précisé en 1995 par l'OMS en le définissant comme « *une condition médicale dans laquelle des individus, dans un bâtiment, souffrent de symptômes ou ne se sentent pas bien sans raison apparente* ». L'agence de protection de l'environnement (EPA) le distingue du concept de « building-related illness » utilisé quand les symptômes sont diagnosticables et peuvent être attribués directement à un contaminant de l'air du bâtiment (EPA, 1991). Une classification plus complète a été proposée par J. Malchaire en 2001. Elle comprend cinq catégories et notamment la séparation en atteintes des voies respiratoires supérieures et des voies profondes ainsi que les symptômes neurologiques.

L'Institut de veille sanitaire a préféré la dénomination de « syndrome collectif inexpliqué » laissant la place aux investigations pour dégager des hypothèses explicatives pouvant être considérées comme un terme temporaire le temps des investigations (InVS, 2010).

Le concept de syndrome du bâtiment malsain est plus largement utilisé dans la littérature, quatre études longitudinales ont été analysées chez des enfants et des adultes (Tableau 15). L'étude de Zhang *et al.* (2011) s'est intéressée aux associations entre l'exposition aux composés fongiques, bactériens et microbiens dans des classes d'écoles et le SBS chez des enfants en Chine. Dans cette étude, l'ADN fongique détecté par qPCR était associé positivement à l'amélioration d'au moins un symptôme de SBS en dehors de l'école mais également à une rémission des symptômes affectant les muqueuses, après prise en compte des facteurs de confusion potentiels dont l'histoire parental d'asthme et d'allergie, et des variables climatiques. L'étude a été réalisée à l'inclusion et au suivi aux mois de décembre/janvier, soit 4 mois après le début de l'année scolaire. Le taux de participation au suivi était de 57%, et s'expliquait principalement parce que 2 écoles sur les 10 à l'inclusion n'avaient pas souhaité participé au suivi, et parce que des enfants avaient changé de classes ou d'école durant les 2 années. Les mesures des expositions ont été réalisées à l'inclusion. Aucune des salles de classe ne présentait de signes visibles d'humidité ou de moisissures mais de l'ADN fongique avait été détecté dans toutes les classes ; *S. chartarum* était détecté dans 27% et *Aspergillus/Penicillium* dans 70% d'entre elles. Dans cette étude, un effet protecteur des composés bactériens notamment les endotoxines et acide muramique était également mis en évidence. Les associations contradictoires trouvées avec l'ADN fongique n'étaient pas discutées par les auteurs. Aucune indication n'était donnée sur l'exposition à l'humidité aux domiciles des enfants. Même si la prévalence des symptômes de SBS augmentait durant les 2 ans, elle était de 28% à l'inclusion et l'étude souffre d'une absence d'analyse qui aurait pu être réalisée chez les cas incidents uniquement, la taille de l'échantillon le permettant.

Sur une même période de suivi, l'étude de Takigawa *et al.* (2009) s'est intéressée aux associations entre les expositions aux moisissures et aux composés chimiques de l'air intérieur dans la pièce

principale de bâtiments nouvellement construits et les symptômes de SBS chez des adultes et des enfants au Japon. Les résultats suggèrent que la présence de moisissures notamment *Aspergillus* et des niveaux élevés de composés chimiques notamment des aldéhydes sont associés au risque de SBS chez les occupants de ces bâtiments. Le taux de participation au suivi était de 69% pour les participants et 53% pour les bâtiments. *Cladosporium* représentait l'espèce fongique la plus présente, et parmi les composés chimiques, le formaldéhyde était le composé le plus retrouvé suivi par l'acétone et l'acétaldéhyde. Bien que les différences ne soient pas significatives, le nombre total de colonies et les concentrations en aldéhydes étaient augmentés durant les deux ans parmi le groupe " incident/persistant", alors qu'ils étaient diminués dans le groupe "rémission/jamais". Les analyses ont pris en compte les facteurs de confusion potentiels dont le stress au travail et l'histoire d'allergies. Des relations dose-réponse ont été identifiées entre l'exposition à *Aspergillus* et à *Penicillium sp.* exprimée en quartiles et les symptômes de SBS parmi le groupe "incident/toujours". Dans un modèle global incluant tous les facteurs de risque, l'effet *d'Aspergillus* restait significatif mais avec un intervalle de confiance très grand en raison du très petit nombre d'individus inclus dans cette analyse. La taille de l'échantillon ne permettait pas de réaliser des analyses uniquement chez les cas incidents.

Les deux études de Sahlberg *et al.* (2009, 2010) ont été réalisées chez l'adulte en population générale et sur une période de suivi de 8 à 10 ans. La sélection des participants a été réalisée dans les deux études par échantillonnage aléatoire à partir des registres civils, et la taille des échantillons au suivi était identique. Les symptômes ont été recueillis à l'inclusion et au suivi mais le questionnaire sur l'exposition (humidité, présence visible de moisissures, et odeur) a été posé au suivi, et recueillait les informations sur l'ensemble de la période de suivi. Les résultats obtenus sont contradictoires, une étude montrant des risques augmentés de développer des symptômes cutanés, des muqueuses ou des symptômes généraux chez les participants rapportant de l'humidité ou des moisissures dans leur logement, la seconde étude ne montrant aucune association. Comme expliqué par les auteurs, bien que le questionnaire sur l'exposition s'intéresse à l'ensemble de la période de suivi, il est posé uniquement au suivi, ce qui est amène un biais de mémoire pouvant en partie expliquer la discordance dans les résultats obtenus. Les analyses réalisées ressemblent donc plus à des analyses transversales.

En résumé, les résultats issus de ces rares études longitudinales sont très hétérogènes, voire contradictoires, probablement en partie en raison de l'hétérogénéité des populations incluses dans les analyses, mais aussi en raison des analyses réalisées. En conclusion, il n'est pas possible à partir de ces résultats de conclure à une association ou à l'absence d'association entre humidité/moisissures et syndrome du bâtiment malsain. Ce constat est dû en partie au fait que la définition du syndrome du bâtiment malsain regroupe plusieurs symptômes très différents, qu'il pourrait être envisagé d'étudier séparément dans les études futures.

Tableau 15 : Synthèse des données des études longitudinales ayant analysé l'association entre l'exposition aux moisissures et le syndrome du bâtiment malsain

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Cohorte d'enfants				
Zhang *et al.* (2011) *Sci of Total Environ*	**Enfants** de 11 à 15 ans de 8 écoles N = 1143 Chine : région urbaine de Tayuan **2 ans** de suivi	**A l'inclusion** -Mesure dans les poussières : 2 échantillons bureau chaise sol + poussières 7 jours (ALK 4 min) **: Allergènes** de moisissures, chat, chien, ADN fongique (qPCR) -Acide muramique, Ergostérol, et acides gras 3-hydroxy (3-OH FA, C10 à C18), LPS -Température, Humidité, CO_2 + informations sur le bâti	**Questionnaires** à l'inclusion et au suivi : -Prévalence tabac, asthme, allergies -Syndrome du bâtiment malsain : symptômes peau, muqueuses, maux de tête, nausée, fatigue, et généraux dans les 3 derniers mois	-**Associations positives** entre ADN fongique total et amélioration symptômes en dehors école OR a= 1,36 ; $CI_{95\%}$ [1,06 - 1,74] et **rémission des symptômes** affectant muqueuses OR = 1,48 ; $CI_{95\%}$ [1,08 - 2,01] **-Associations négatives** entre LPS, acides gras 3-OH (C14, C16 et C18) et MuA et symptômes affectant muqueuses : OR ajustés de 0,75 à 0,97, et **rémission** des symptômes pour C16 OR=0,91 ; $CI_{95\%}$ [0,83 - 0,99]
Cohorte d'enfants et d'adultes				
Takigawa *et al.* (2009) *Sci of Total Environ* VOCs: composés organiques volatiles	**Personnes de tout âge** (âge moyen 34 ans de 0 à 90 ans) de 48 logements Japon : préfecture d'Okayama N=170 **2 ans** de suivi	**A l'inclusion et au suivi** -Mesure dans les p**oussières** : sol salon $2m^2$ tatami/$1m^2$ tapis Analyse par **Culture** CFU/m^3 **+ Allergènes** d'acariens	**Questionnaires** **Symptômes** optiques, nasaux, respiratoires, dermiques et généraux au cours des 3 derniers mois -Histoire maladies allergiques **4 groupes :** incident, persistant, rémission, jamais	-**Associations** dose-réponse entre changements dans concentrations en formaldéhyde, *Aspergillus*, et *Penicillium* sp et groupes incident/continu et symptômes SBS (OR de 1,68 à 4,97)
Cohorte d'adultes				
Sahlberg 2010 *Scan J Public Health*	Adultes de 20 à 65 ans population générale Suède N=427 **10 ans** de suivi	Questionnaire validé sur le bâtiment : âge, type, ventilation, ainsi que odeur et présence de moisissures dans les 12 derniers mois (questionnaire pour l'ensemble des 10 ans)	Auto-questionnaire : - **Symptômes** oculaires, nasaux, respiratoires, dermiques et généraux au cours des 3 derniers mois	-**Augmentation** du risque de développer des symptômes cutanés (RR= 2,32 ; $CI_{95\%}$ [1,37–3,93]), des muqueuses (RR=3,17 ; $CI_{95\%}$ [1,69–5,95]) ou symptômes généraux (RR=2,18 ; $CI_{95\%}$ [1,29–3,70]) chez participants rapportant de l'humidité ou des moisissures dans leur logement. -Rémission des symptômes moins fréquente chez personnes vivant dans un logement humide **Questionnaire sur l'exposition posé au suivi !**

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Sahlberg 2009 *Int Arch Occup Environ Health*	Adultes de 20 à 65 ans population générale N=348 Suède **8 ans** de suivi	Questionnaire validé sur le bâtiment : âge, type, ventilation, ainsi que odeur et présence de moisissures dans les 12 derniers mois (questionnaire pour l'ensemble des 8 ans).	Auto-questionnaire : - **Symptômes** oculaires, nasaux, respiratoires, dermiques et généraux au cours des 3 derniers mois	-Pas d'association entre l'humidité ou des moisissures dans le logement et le risque de développer des symptômes cutanés (RR = 0,91 ; $CI_{95\%}$ [0,63-1,33]), des muqueuses (RR=1,05 ; $CI_{95\%}$ [0,74-1,48]) ou symptômes généraux (RR=0,92 ; $CI_{95\%}$ [0,60-1,41]). **Questionnaire sur l'exposition posé au suivi.**

4.3.4.2 Effets neurologiques et psychologiques

Deux études de cohortes de naissance ont évalué l'impact de l'exposition aux moisissures dès la petite enfance sur l'altération de la fonction cognitive chez l'enfant (Tableau 16). Les paramètres étudiés sont le Quotient intellectuel (QI) et des troubles du comportement.

L'étude de Jedrychowski *et al.* (2011) s'est intéressée au lien entre la présence de moisissures chez des enfants et le développement mental à l'âge de 6 ans (Test de Weschler – WISC-R). L'exposition aux moisissures a été rapportée sur les 6 ans de suivi : tous les 3 mois jusqu'à 2 ans, puis tous les 6 mois. L'exposition a été qualifiée de courte durée (≤ 2 ans) et de longue durée (> 2 ans) correspondant respectivement à 18,8% et 5,4% des participants ; la majorité n'étant pas exposée. Cette étude met en évidence l'association entre l'exposition de longue durée aux moisissures et des déficits au niveau du développement mental (objectivés par une diminution du QI ou du risque d'avoir un score faible[14]) après ajustement sur deux facteurs confondants importants (allaitement maternel et niveau d'éducation maternelle). Une baisse de 10 points sur l'échelle du test WISC-R pour le score moyen est liée à l'exposition de longue durée aux moisissures.

L'étude de Casas *et al.* (2013) a porté sur l'association entre l'exposition à l'humidité et aux composés fongiques et bactériens (endotoxines et EPS) et le développement cognitif d'enfants à l'âge de 4 ans en Espagne. L'humidité dans différentes pièces du logement a été rapportée par questionnaire rempli par les parents aux 3 mois, 1 et 2 ans de l'enfant. Plus de 60% des participants n'ont jamais rapportés de problèmes d'humidité et environ 20 % des problèmes persistants pendant les 2 années de suivi. Une diminution de 2 à 6 points pour le test de développement cognitif et de 2 à 7 points sur les compétences en société a été associée à une exposition persistante à l'humidité sur les 2 premières années de vie. Les niveaux d'endotoxines et EPS ont été déterminés en 2009-2010 à partir des prélèvements de poussières du canapé réalisés à l'âge de 3 mois. Aucune association n'a été mise en évidence entre les niveaux de composés fongiques et bactériens et les symptômes neurologiques.

Les deux études soulignent que peu de données épidémiologiques se sont intéressées aux effets sur la santé mentale d'une exposition aux biocontaminants ; la plupart des études se limitant aux bâtiments ayant connus des dégâts des eaux ou aux facteurs sociaux.

Les données du projet européen LARES (the Large Analysis and Review of European housing and health Status) coordonné par le bureau européen de l'OMS complètent ce domaine concernant les effets psychologiques chez l'adulte. Une approche globale de la qualité de l'habitat et des facteurs de risque pour la santé des occupants a été mise en œuvre. Huit villes européennes dont Angers en France ont participé à ce projet. Cette étude transversale réalisée entre 2002 et 2003 a reposé sur un échantillon aléatoire de 3373 logements et l'état de santé de 8519 occupants. L'analyse de ces données a mis en évidence le lien entre la santé des occupants et les conditions suivantes de l'habitat : dégradation des conditions intérieures environnementales (humidité, moisissures, émissions, ...), le confort thermique, le bruit et l'accessibilité (OMS, 2007).

A partir des données de cette étude, Shenassa *et al.* (2007) ont étudié la relation entre les conditions d'humidité et de moisissures et les symptômes de dépression chez l'adulte (5882 participants de plus de 18 ans de 2982 habitations). Antérieurement, quelques études réalisées au Royaume-Uni remontant aux années 90 sont mentionnées sur le lien entre humidité, moisissures et santé mentale ne reposant pas toujours sur des analyses multivariées. Shenassa *et al.* (2007) observent une association positive et significative pour 2 classes d'exposition (minimal et moderate) comparée à l'absence d'exposition mais qui est à la limite de la significativité pour la classe d'exposition la plus élevée « extensive ». Des résultats comparables sont rapportés par les auteurs en prenant en compte les diagnostics médicaux d'anxiété ou de dépression chronique.

[14] Score faible de QI défini au 25ème percentile de l'échantillon correspondant à 113 points de QI :

L'analyse de 2 variables intermédiaires[15], la perception de contrôle de son habitation et d'autres symptômes de santé pouvant être relié aux moisissures[16], atténue l'association entre moisissures et symptômes de dépression.

Tableau 16 : Synthèse des données des études longitudinales ayant analysé l'association entre l'exposition aux moisissures et les effets neurologiques

Références	Descriptif de l'étude	Caractérisation Exposition	Effets	Résultats
Casas *et al.* (2013) *Int J Hyg Env Health*	Cohorte de naissance Espagne (Ile Menorca au Nord-Est) N=424 4 ans de suivi	Humidité (H) persistante rapportée Questionnaire rempli par les parents à l'âge de 3 mois, 1, 2 ans Mesure dans les poussières du canapé de la salle principale à l'âge de 3 mois : endotoxines et EPS (extracellular Polysaccharides	Test à 4 ans sur le développement cognitif : MSCA (McCarthy Scales of Child Abilities) Test sur les compétences sociales : CPSCS (California Preschool Social Competence Scale)	H persistante : Maison MSCA coef β -4,85 ($CI_{95\%}$ [-8,94; -0,77]) CPSCS Chambre CPSCS : -6,54 ($CI_{95\%}$ [-12,19; 0.89] Endotoxines et EPS : NS Ajustement Education, intelligence, allaitement maternels Tabac, Profession
Jedrychowski *et al.* (2011) *Phys Beh*	Cohorte de naissance Pologne (Krakow) N=277 6 ans de suivi	Moisissures rapportées tous les 3 mois jusqu'à 2 ans, puis tous les 6 mois M persistantes > 2ans	Test à 6 ans d'évaluation de l'intelligence et neuropsychologique : WISC-R (Wechsler Intelligence Scale for Children)	Moisissures persistantes (plus de 2 ans) WISC – faible niveau de QI (P25 = 113) : ORa =3,53 ; $CI_{95\%}$ [1,11-11,27] Ajustement : Intelligence mère, Allaitement maternel, Nombre de frères, Tabagisme

En conclusion, les études mettent en évidence chez l'enfant une association entre des expositions de longue durée (> 2 ans) aux moisissures dès la petite enfance et l'altération de la fonction cognitive définie par le Quotient intellectuel et les troubles du comportement.

4.3.5 Conclusions sur l'apport des données chez l'Homme

Les résultats des études chez l'Homme permettent de mettre en évidence la relation entre l'exposition aux moisissures et la survenue d'effets respiratoires principalement. Des premières données concernant les effets neurologiques ressortent de cette expertise. Le Tableau 17 synthétise les conclusions des données chez l'Homme par effet en distinguant dans le cas de l'asthme les données chez l'enfant et l'adulte.

---

[15] mediator

[16] rhume ou maux de gorge, sifflement, crise d'asthme, problème respiratoire, fatigue et maux de tête

Tableau 17 : Synthèse des conclusions de l'expertise des données épidémiologiques

Effet sanitaire	Conclusion	références
Asthme chez l'enfant	**Développement d'asthme**	
	Association mise en évidence entre la présence des moisissures dans les pièces à vivre et la survenue de symptômes respiratoires, l'asthme en étant la manifestation princeps.	8 publications (4 cohortes de naissance et 4 études cas incident-témoins), 5 méta-analyses et 2 revues systématiques
	Résultats discordants sur l'association entre les mesures d'exposition quantitative aux moisissures et la survenue de symptômes respiratoires : Facteurs de risque / effets protecteurs selon les milieux et les composants considérés (spores, glucanes, ergostérol, polysaccharides et endotoxines)	11 publications longitudinales (9 cohortes de naissances et 2 cas-témoins nichés), et 2 revues systématiques
	Exacerbation de l'asthme	
	Association mise en évidence entre l'exposition aux moisissures, notamment à des spores fongiques dont *Penicillium* et l'exacerbation de l'asthme chez des enfants asthmatiques	5 études de panel, 1 méta-analyse (la 1ère prenant en compte l'exposition à des espèces fongiques) et 2 revues systématiques
Asthme chez l'adulte	**Développement d'asthme**	
	Niveau de preuve insuffisant Résultats insuffisamment cohérents sur l'association entre l'exposition aux moisissures et l'incidence de l'asthme, *en population générale* par rapport aux autres facteurs liés à l'humidité dans les logements	4 études longitudinales identifiées chez l'adulte portant sur une caractérisation de l'exposition qualitative
	Association mise en évidence entre l'exposition aux moisissures *sur le lieu de travail* (bâtiment ayant connu des dégâts des eaux importants) et l'incidence et la morbidité de l'asthme chez l'adulte	6 études longitudinales réalisées dans des pays nordiques ou dans des établissements ayant connu des dégâts des eaux importants aux Etats-Unis
Rhinite allergique	**Association mise en évidence entre l'exposition aux moisissures et le risque de rhinite allergique** **Difficile de conclure à l'existence d'une relation causale**	5 méta-analyses basées sur des estimations provenant d'enquêtes transversales Manque de données issues d'études longitudinales. 5 identifiées ne mettant pas évidence le risque de rhinite en lien avec la présence de moisissures
Syndrome du bâtiment malsain (SBS),	Résultats discordants sur la relation entre l'exposition aux moisissures en population générale et SBS.	4 études longitudinales s'intéressant à des populations très différentes
Effets neurologiques et psychologique	**Association mise en évidence principalement pour des expositions de longue durée (> 2 ans) aux moisissures dès la petite enfance sur l'altération de la fonction cognitive chez l'enfant (Quotient intellectuel et comportement en société).**	2 études longitudinales (1 sur l'humidité et l'autre sur la présence de moisissures) 1 étude transversale sur les symptômes de dépression chez l'adulte en lien avec conditions d'humidité et de moisissures (Etude coordonnée par l'OMS – LARES)

4.4 Données chez l'animal

4.4.1 Objectif et démarche de revue de la littérature

L'analyse des études toxicologiques porte sur les effets observés ou suspectés chez l'animal suite à une exposition par inhalation aux moisissures afin notamment d'apporter des données complémentaires aux données chez l'Homme.

Les résultats des études chez l'animal fournissent des informations sur les aérobiocontaminants fongiques potentiellement dangereux pour la santé et permettent de supporter les observations issues des données épidémiologiques. Ils permettent également de mettre en évidence des organes cibles et des mécanismes biologiques potentiellement impliqués dans les effets toxiques observés en lien avec une exposition par inhalation aux aérobiocontaminants fongiques.

Les données toxicologiques sélectionnées à l'issue de la recherche bibliographique spécifique sont détaillées ci-après. Au final, 25 publications ont été choisies et analysées en texte intégral (Etape 3 - Figure 1 du chapitre 2.3) à partir d'une grille simplifiée destinée à décrire les espèces ou élément(s) fongique(s) étudié(s), les animaux testés, les paramètres d'exposition, les observations et paramètres analysés, les effets observés – toxicité (Annexe 10). Ces études décrivent principalement les effets observés *in vivo* chez l'animal suivant une exposition par inhalation aux spores fongiques et aux fragments mycéliens qui contiennent différents éléments fongiques : β-(1,3)-glucanes et autres composants de la paroi cellulaire du mycélium et des spores, mycotoxines et composés organiques volatils microbiens (COV_m). Les moisissures les plus représentées sont *Stachybotrys chartarum* ainsi que les genres *Aspergillus* et *Penicillium*.

Compte tenu de la méthode de recherche bibliographique mise en œuvre pour l'identification de ces études, les données recensées dans ce chapitre ne permettent pas de couvrir de manière exhaustive l'ensemble des éléments relatifs à la toxicologie des spores et éléments fongiques (β-glucanes), ou des produits du métabolisme fongique (mycotoxines ou COV_m). Ces données sont complémentaires des conclusions présentées dans les rapports d'études antérieurs (OMS, 2009 ; IOM, 2004) et y seront donc confrontées afin de confirmer ces résultats ou d'apporter le cas échéant, des éléments d'informations nouveaux.

4.4.2 Effets respiratoires

4.4.2.1 Mécanismes allergiques (réactions IgG ou IgE dépendantes) mis en jeu suite à une exposition aux aérobiocontaminants fongiques

4.4.2.1.1 Exposition aux spores d'Aspergillus fumigatus

L'exposition aux aérobiocontaminants fongiques est susceptible de provoquer des effets respiratoires chez l'Homme parmi lesquels l'asthme allergique.

Selon Hoselton *et al.* (2010), le lien entre la sensibilisation aux allergènes fongiques et la sévérité de l'asthme est aujourd'hui reconnu mais les mécanismes d'interaction hôte-moisissures à l'origine de ces observations n'ont pas encore été élucidés. Dans cette étude, les auteurs ont développé un modèle murin de réactions allergiques respiratoires aux spores environnementales d'*Aspergillus fumigatus.* Des souris Balb/c ont été préalablement sensibilisées par des injections sous-cutanées et intra péritonéales d'extraits d'*A. fumigatus* (10 µg au total) dissous dans de l'alun, suivies par 3 inoculations intranasales hebdomadaires des mêmes antigènes fongiques (20 µg par semaine) dissous dans une solution saline. Les animaux ont ensuite été exposés pendant 10 min, par inhalation « nose only », à des conidies vivantes mises en suspension directement à partir de la surface d'une culture d'*A. fumigatus* par impulsion d'air. La dose d'exposition (dénombrement des spores viables) a été estimée par les auteurs à $6{,}6.10^5$ ($\pm$ $0{,}43.10^5$) UFC. Dans la conception de leur modèle, **les auteurs ont émis l'hypothèse que cette méthode d'exposition des animaux**

par inhalation directement à partir d'une culture fongique (plutôt qu'à partir d'une suspension de spores) présentait l'avantage de préserver les caractéristiques antigéniques et hydrophobes des spores et donc de se rapprocher des conditions réelles d'exposition environnementale. Ce modèle pourrait s'avérer pertinent pour l'étude de l'asthme allergique humain. L'objectif de cette étude était de vérifier que les spores d'*Aspergillus* peuvent atteindre les poumons de souris et que l'inhalation de ces spores dans des poumons préalablement sensibilisés aux antigènes d'*A. fumigatus* est susceptible de déclencher des réactions pulmonaires allergiques.

Les animaux exposés ainsi que les animaux des 2 groupes témoins (un groupe d'animaux « naïfs » non sensibilisés et non exposés aux conidies d'Aspergillus. Un groupe d'animaux sensibilisés mais non soumis au test de provocation allergique par inhalation de conidies) ont ensuite été soumis à une série d'examens : mesure de l'hyperréactivité bronchique par un test de provocation bronchique à la méthacholine, analyse cytologique du liquide de lavage broncho-alvéolaire (LLBA), analyse des cytokines dans les broyats pulmonaires (IL-4 et IFN-γ), détermination des taux d'IgE sériques, analyse histologique des poumons et des bronches.

Un recrutement des leucocytes dans les voies respiratoires a été observé chez les animaux exposés aux conidies d'*A. fumigatus via* le test de provocation allergique par inhalation. Une inflammation péri-bronchique persistante était visible au moins jusqu'au 35ème jour après la provocation allergique ; les éosinophiles et les lymphocytes étaient les cellules inflammatoires prédominantes à partir du 7ème jour suivant la provocation. La phase de sensibilisation et le test de provocation allergique par inhalation s'accompagnent d'une augmentation des médiateurs associés aux réponses inflammatoires (augmentation de la production d'IL-4 pendant la sensibilisation du poumon ; augmentation de la production d'IL-4 et d'IFN-γ après le test de provocation allergique) et allergiques (augmentation des IgE sériques). Chez les souris sensibilisées et exposées par inhalation aux spores d'*A. fumigatus*, les auteurs ont pu observer des signes d'hyperréactivité bronchique ; l'architecture du poumon révèle une augmentation significative de l'épaisseur de l'épithélium, une métaplasie des cellules caliciformes, et le dépôt de collagène péribronchique. En outre, une coloration de l'α-actine des muscles lisses montre une augmentation de la masse musculaire lisse péribronchique.

Les auteurs concluent que le modèle animal développé devrait permettre de faire avancer l'étude de la réponse allergique respiratoire vis-à-vis des moisissures puisqu'il simule de manière plus fidèle, les mécanismes de l'exposition aux allergènes rencontrés chez l'Homme. Ce modèle fournit une méthode d'exposition plus représentative des expositions environnementales (inhalation de spores vivantes par aérosolisation à partir d'une culture fongique) et **les auteurs mettent pour la première fois en évidence dans un modèle murin, en réponse à l'exposition à des spores fongiques par inhalation, le développement d'une fibrose et les changements musculaires lisses des voies aériennes qui accompagnent chez l'Homme la réponse allergique inflammatoire**.

Selon Pandey *et al.* (2013), *A. fumigatus* est une des espèces fongiques les plus couramment détectées dans les environnements intérieurs ayant subi un dégât des eaux (aérosolisation des eaux résiduelles) et dans les poussières de grains contaminés. Hydrophobes et de petite taille (2-3 µm de diamètre), les spores de ce champignon peuvent rester en suspension dans l'air pendant une longue période, augmentant la probabilité d'être inhalées et d'atteindre les espaces alvéolaires des poumons humains. *A. fumigatus* est responsable d'allergies (au moins 23 allergènes identifiés) et de pathologies opportunistes, plusieurs maladies respiratoires sont associées à l'exposition à cette moisissure : aspergillose bronchopulmonaire allergique (ABPA), asthme sévère avec sensibilisation fongique, rhinite, sinusite et pneumopathies d'hypersensibilité (PHS).

Les auteurs se sont intéressés aux impacts de la viabilité *d'A. fumigatus* et d'une sensibilisation à ses allergènes sur les symptômes d'asthme allergique observés chez la souris en réponse à une exposition à cette moisissure. L'objectif de cette étude est double, il s'agit d'une part, d'évaluer la capacité des spores mortes (tuées par irradiation) ou vivantes *d'A. fumigatus* dans l'induction d'une allergie pulmonaire et d'autre part, d'évaluer l'influence des spores mortes ou vivantes inhalées sur les symptômes pulmonaires observés chez des souris préalablement sensibilisées.

Deux protocoles ont été mis en œuvre pour répondre à ces 2 objectifs : le protocole (a) concerne des souris Balb/c non sensibilisées et le protocole (b) intègre des souris Balb/c sensibilisées aux antigènes d'*A. fumigatus* par des injections sous-cutanées et intra péritonéales d'extraits d'*A. fumigatus* (10 µg au total) dissous dans de l'alun, suivies par 3 inoculations intranasales hebdomadaires des mêmes antigènes fongiques (20 µg par semaine) dissous dans une solution saline. Au sein des 2 protocoles, les souris ont été exposées par inhalation « nose only » pendant 10 minutes (1 fois par semaine pendant 3 semaines) à des spores d'*A. fumigatus* mortes ou vivantes *via* le dispositif d'aérosolisation développé dans l'étude de Hoselton *et al.* (2010).

Les animaux exposés ont ensuite été soumis à une série d'examens : analyse cytologique du LLBA, détermination des taux d'anticorps dans le sérum et le LLBA (IgA, IgG1, IgG2a et IgE), synthèse d'ADN complémentaire afin d'étudier par qPCR l'expression de plusieurs gènes (CCL-17 ; TSLP ; HPRT-1, contrôle interne) dans les poumons de souris, analyse histologique des poumons et des bronches et détection des anticorps pulmonaires (IgA, IgE et IgG) par immunohistochimie.

Chez les souris non sensibilisées, l'inhalation de spores vivantes d'*A. fumigatus* conduit à une **augmentation de la réponse humorale** (augmentation significative des taux d'IgA et IgG2a dans le sérum et dans le LLBA ; détection d'IgA associées à des cellules dans le parenchyme et la région péri-broncho-vasculaire des poumons ; présence d'IgE et d'IgG sécrétées au niveau de l'endothélium des vaisseaux sanguins situés autour des voies aériennes), une **inflammation pulmonaire** (augmentation significative du nombre de neutrophiles, d'éosinophiles et de lymphocytes dans le LLBA) et un **remodelage des voies aériennes** (métaplasie des cellules caliciformes, épaississement de l'épithélium et dépôts de collagène sous-épithélial). Les spores mortes induisent des réactions similaires mais plus faibles que les spores vivantes et pas toujours significatives. Chez les souris allergiques, l'inhalation de conidies mortes ou vivantes induit également une **augmentation de la réponse humorale** (augmentation significative des taux d'IgE et d'IgA dans le sérum et dans le LLBA ainsi que des taux d'IgG1 sériques), une **inflammation pulmonaire** (recrutement significatif de neutrophiles dans le LLBA à un niveau équivalent pour une exposition aux spores mortes ou vivantes ; augmentation significative du nombre d'éosinophiles et de lymphocytes dans le LLBA à un niveau significativement plus élevé pour une exposition aux spores vivantes) et un **remodelage des voies aériennes** (métaplasie des cellules caliciformes à un niveau équivalent pour une exposition aux spores mortes ou vivantes et dépôts de collagène sous-épithélial). Selon les auteurs, les différences observées chez les souris non sensibilisées suite à l'inhalation de conidies d'*A. fumigatus* vivantes et mortes corroborent les résultats d'études précédentes suggérant que **le gonflement des spores (étape d'activation de la germination) est indispensable pour la mise à disposition des éléments immunogènes à la surface des spores** ; ce gonflement ne pouvant pas se produire pour les spores mortes. Les observations faites chez les souris sensibilisées suggèrent que **chez les personnes présentant déjà une allergie à des antigènes fongiques, les symptômes de l'asthme pourraient être exacerbés par l'inhalation de spores fongiques vivantes ou mortes.** L'ampleur des symptômes est généralement moindre lors d'une exposition à des spores mortes.

4.4.2.1.2 Exposition aux spores de Stachybotrys chartarum

Dans la réponse immunitaire à médiation cellulaire, 2 grands types de lymphocytes T CD4+ helper (Th) sont amenés à intervenir : les lymphocytes Th1 organisent la réponse cytotoxique CD8+ et les lésions tissulaires et les lymphocytes Th2 sont impliqués dans les réponses humorales (aide à la production d'anticorps). La sécrétion de cytokines spécifiques par les lymphocytes Th1 (IL-2, IFN-γ, TNF-α) et Th2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 et IL-13) caractérise les réponses dites « Th1 » et « Th2 » ; ces deux réponses se régulant l'une et l'autre (les cytokines produites par les Th1 inhibent les lymphocytes Th2 et inversement). Une 3ème catégorie de Th a également été décrite, les lymphocytes Th17. En réponse à leur activation par l'IL-23, ces cellules produisent de l'IL-17, de l'IL-6 et du TNF-α et semblent jouer un rôle dans les mécanismes inflammatoires mis en jeu dans de nombreuses maladies auto-immunes ou dysimmunitaires.

La pneumopathie d'hypersensibilité est une maladie inflammatoire du poumon qui se développe

après une exposition répétée à des particules inhalées. Selon Bhan *et al.*, (2013), *Stachybotrys chartarum* est un champignon qui a été impliqué dans un certain nombre de maladies respiratoires, y compris la PHS. Dans cette étude, les auteurs ont développé un modèle murin de PHS induite par *S. chartarum* qui reproduit la pathologie observée chez l'Homme et ils ont émis l'hypothèse que la production d'IL-23 et d'IL-17 due à l'activation du TLR9 (toll-like receptor 9) était nécessaire pour déclencher l'inflammation granulomateuse induite par l'inhalation de spores de *S. chartarum*. Les auteurs ont exposé des souris Balb/c et des souris mutantes TLR9-/- par injection intra-trachéale à des spores de *S. chartarum* (10^6 spores en solution). Les animaux des 2 groupes ont été préalablement sensibilisés par des injections intra-péritonéales suivies d'administrations intranasales de spores de *S. chartarum* (10^6 spores en solution saline). Chez les souris Balb/c exposées aux spores de *S. chartarum*, les auteurs ont observé une inflammation granulomateuse et une expression pulmonaire marquée d'IL-23 et d'IL-17 alors que chez les souris TLR9-/-, les auteurs ont observé une diminution de l'expression pulmonaire d'IL-17 et d'IL-23. En comparaison avec les souris Balb/c, une baisse de la capacité des cellules dendritiques à produire de l'IL-23 en réponse à une exposition à *S. chartarum* a également été observée chez les souris TLR9-/-. Par ailleurs, suite à l'administration intra-trachéale d'IL-23 chez les souris TLR9-/-, les auteurs rapportent le recouvrement d'une immunopathologie semblable à celle observée chez les souris Balb/c. Les résultats de cette étude suggèrent que le TLR9 est déterminant dans le développement de l'inflammation granulomateuse pulmonaire médiée par les lymphocytes Th17 en réponse à une exposition aux spores de *S. chartarum*.

L'humidité excessive dans les bâtiments est associée à la croissance de micro-organismes tels que *S. chartarum*. Les symptômes associés chez l'Homme à l'exposition aux spores fongiques sont divers, et les effets sur la santé associés à l'exposition aux bâtiments humides dépendent de l'état immunologique de l'individu exposé. Leino *et al.*, (2006) ont précédemment observé, dans un modèle murin non allergique, que l'exposition à *S. chartarum* pouvait induire une inflammation pulmonaire caractérisée par une infiltration de neutrophiles et de lymphocytes ; ce processus est régulé par des cytokines pro-inflammatoires et des chimiokines impliquées dans le recrutement des leucocytes circulants vers les sites inflammatoires. L'hyperréactivité bronchique, l'éosinophilie, l'augmentation des niveaux de cytokines de type Th2 (ex : IL-4, IL-5 et IL-13) dans les poumons ainsi que la production d'IgE sériques sont caractéristiques de l'asthme allergique ; ces caractéristiques de la maladie peuvent être induites dans un modèle murin d'asthme allergique aigu. Etant donné qu'un terrain atopique est susceptible d'influencer la réponse vis-à-vis des micro-organismes, **les auteurs se sont ici intéressés aux effets de *S. chartarum* et sa capacité à induire une inflammation pulmonaire sur un modèle expérimental de souris allergiques**. Des souris Balb/c ont été sensibilisées par des injections intra-péritonéales d'ovalbumine (OVA) dans de l'alun. Les souris ont ensuite été exposées 2 fois par semaine pendant 3 semaines par instillations intranasales soit à des doses de 2.10^5 spores de *S. chartarum* (dans une solution saline), soit à une solution saline. En vue d'une comparaison, 2 autres groupes de souris n'ont pas été sensibilisées à l'OVA et ont ensuite été exposées par voie intranasale soit aux spores de *S. chartarum*, soit à une solution saline. Chacun des 4 groupes était composé de 8 souris et les derniers jours de l'expérience, toutes les souris ont été exposées par inhalation à de l'OVA. Plusieurs mesures ont été réalisées : détermination de la réactivité bronchique par un test à la méthacholine, analyse cytologique du LLBA, détermination des niveaux sériques d'IgE totales, d'IgE, IgG1 et IgG2a spécifiques de l'OVA et de *S. chartarum*, analyse par qPCR de l'expression des ARNm codant pour des cytokines et chimiokines et analyses de cytokines et chimiokines dans le LLBA.

Chez les souris allergiques (par sensibilisation à l'ovalbumine), l'exposition intranasale aux spores de *S. chartarum* entraine une augmentation marquée des éosinophiles et des neutrophiles dans le LLBA comparativement aux souris sensibilisées à l'OVA mais non exposées à *S. chartarum* ou aux souris exposées mais non sensibilisées. On observe également des infiltrats granulomateux inflammatoires dans les différents compartiments pulmonaires (péribronchique, périvasculaire et espaces alvéolaires). Chez les 2 groupes de souris sensibilisées à l'OVA (exposées ou non aux spores de *S. chartarum*), les concentrations sériques d'IgE totales et d'IgE, IgG1et IgG2a spécifiques de l'OVA étaient élevées, mais étaient au même niveau. Au sein des 4 groupes de

l'étude, aucune augmentation significative des anticorps sériques spécifiques de *S. chartarum* n'a été détectée. L'expression des ARNm codant pour les cytokines pro-inflammatoires Th1 (IL-1 et TNF-α) et pour la chimiokine (CCL3/MIP-1α) était augmentée dans les poumons chez les souris allergiques exposées à *S. chartarum*. En dépit de l'augmentation de la réaction inflammatoire pulmonaire, l'exposition aux spores de *S. chartarum* régule significativement à la baisse l'hyperréactivité bronchique et aurait tendance à diminuer les niveaux de cytokines Th2 dans les poumons. Les auteurs concluent que **selon le statut allergique des animaux, l'exposition aux spores de *S. chartarum* module différemment la réaction inflammatoire pulmonaire et l'hyperréactivité bronchique**.

Lors de l'inhalation de spores de *S. chartarum*, les mycotoxines qu'il produit peuvent causer des lésions pulmonaires et une inflammation. Chez l'Homme, la sévérité de la réponse à une exposition professionnelle ou domestique à *S. chartarum* est très variable. Afin d'investiguer ces variabilités, Lichtenstein *et al.*, (2006) ont étudié chez 3 espèces de souris différentes, la **réponse pulmonaire (marqueurs biochimiques et cellulaires de lésions et d'inflammation pulmonaires) suite à une exposition intra-trachéale à *S. chartarum***. Les auteurs ont comparé la réponse de souris, Balb/c, C3H/Hej et C57BL/6 à une exposition intratrachéale aux spores de *S. chartarum* (1 à 10 $x10^6$ spores/ml) dans une solution saline. Une analyse cytologique du LLBA a été réalisée ainsi que la mesure des marqueurs biochimiques et cellulaires de lésions pulmonaires et d'inflammation. **Les souris BALB/c sont les plus sensibles** (activité de la myéloperoxydase, albumine et hémoglobine plus élevés, nombre de neutrophiles dans le LLBA). La lignée BALB/c est la seule à montrer une augmentation significative des cytokines inflammatoires (IL-1, IL-3, IL-6, IL-18 et TNF-α) et des niveaux de chimiokines dans les poumons. Un modèle animal d'inflammation allergique des voies respiratoires (animaux sensibilisés à l'ovalbumine par injections intra-péritonéales) a également été étudié afin de déterminer si une inflammation allergique sous-jacente pouvait contribuer à l'augmentation de la susceptibilité vis-à-vis de l'inflammation et des lésions pulmonaires induites par *S. chartarum*. Étonnamment, chez les souris Balb/c, l'inflammation des voies respiratoires induite par l'ovalbumine a un effet protecteur vis-à-vis de certaines réactions pulmonaires induites par *S. chartarum*.

Dans une étude plus récente, les mêmes auteurs ont **comparé la clairance pulmonaire et systémique de spores de *S. chartarum* chez 2 espèces de souris, des souris Balb/c et C56BL/6.** Des souris Balb/c et C56BL/6 ont ainsi été exposées par voie intratrachéale à des doses de $6,25.10^5$ spores de *S. chartarum*. **L'élimination des spores est plus rapide chez les souris C56BL/6 que chez les Balb/c**. D'après la littérature, les souris Balb/c ont une réponse Th2 dominante (activation de la production d'anticorps), alors que les souris C56BL/6 ont une réponse Th1 dominante (activation de l'activité phagocytaire des macrophages) ; les auteurs ont ainsi posé l'hypothèse que les souris C56BL/6 peuvent assurer une clairance plus efficace que les souris Balb/c vis-à-vis des spores fongiques, induisant une différence concernant la dose de spores intégrées au fil du temps. Afin de déterminer quels mécanismes pourraient être responsables des différences de clairance et de réponses pulmonaires inflammatoires (observation de l'étude précédente) entre les 2 espèces, les auteurs ont exposés *in vitro* des macrophages alvéolaires issus du LLBA des 2 espèces à des spores et des mycotoxines de *S. chartarum*. La sensibilité des 2 lignées de macrophages alvéolaires vis-à-vis des spores et des mycotoxines de *S. chartarum* est différente. Les réponses inflammatoires observées suite à l'exposition des macrophages aux mycotoxines de *S. chartarum* sont en partie similaires à celles observées *in vivo* suite à une exposition aux spores de *S. chartarum.* Les données de cette étude suggèrent que les différences de clairance pulmonaire des spores observées entre les 2 espèces de souris pourrait contribuer aux différences dans les réponses inflammatoires pulmonaires observées entre ces 2 mêmes espèces suite à une exposition aux spores de *S. chartarum* (Lichtenstein *et al.*, 2010).

Les différentes espèces de souris ne présentent donc pas la même sensibilité vis-à-vis de *S. chartarum.* De manière analogue, chez l'Homme, des différences génétiques sous-jacentes sont susceptibles de contribuer à la large gamme de sensibilité observée vis-à-vis de *S. chartarum*.

4.4.2.1.3 Etude du pouvoir allergisant de type IgE de différentes espèces de moisissures entre elles et vis-à-vis des acariens

Dans son rapport publié en 2004, l'IOM suggère que des recherches sont nécessaires afin de mieux appréhender les effets des moisissures sur les pathologies allergiques et notamment sur le développement de l'asthme.

Ward *et al.*, (2010) ont réalisé une **comparaison des réponses allergiques induites par *Penicillium chrysogenum* et par des extraits d'acariens (*Dermatophagoides farinae* et *pteronyssinuss*)** dans un modèle de souris. Des souris Balb/c ont été exposées par voie intra-trachéale à 0 ; 2,5 ; 5 ; 10 ; 20 ; 40 ou 80 µg d'extraits fongiques ou d'acariens. S'en est suivie une analyse du sérum pour doser les IgE sériques totales et spécifiques (*Penicillium chrysogenum* et acariens) et du liquide de lavage bronchoalvéolaire afin de mesurer les taux de LDH, le nombre de protéines totales ainsi que le nombre différentiel de cellules. Un test de provocation à la méthacholine a également été effectué sur les animaux 1 jour après l'exposition finale.

L'allergénicité relative des extraits est évaluée sur la base de la plus faible dose capable d'induire une réponse significative comparativement au contrôle (0 µg) et sur la robustesse de la réponse. *Penicillium chrysogenum* induit la réponse la plus robuste à la plus faible dose pour la plupart des paramètres étudiés. L'exposition aux extraits de *Penicillium chrysogenum* induit notamment une augmentation significative des IgE totales comparativement au contrôle à la dose de 10 µg, contre 20 µg pour les acariens. Comparativement aux extraits d'acariens, *Penicillium chrysogenum* induit une augmentation significative des niveaux d'IgE sériques pour les doses de 10, 40 et 80 µg. Par ailleurs, la dose de *Penicillium chrysogenum* nécessaire au développement d'un niveau efficace d'IgE sériques spécifiques (permettant d'assurer l'induction de 10% du relargage total de médiateurs) était de 5,11 µg contre 13,17 µg pour les extraits d'acariens. En comparaison aux acariens, *Penicillium chrysogenum* induit une libération significative de médiateurs pour les doses de 5, 10, 40 et 80 µg. **Les données de cette étude suggèrent que les extraits de *Penicillium chrysogenum* sont susceptibles d'induire une réponse allergique plus robuste et à des doses plus faibles que les extraits d'acariens**.

Deux facteurs critiques dans le développement des pathologies allergiques humaines, les niveaux d'exposition et les seuils de sensibilisation, sont inconnus pour la plupart des allergènes y compris les allergènes fongiques. **Les données présentées dans cet article suggèrent l'existence d'une dose seuil pour l'induction d'une réponse allergique à *Penicillium chrysogenum*** ; par ailleurs, cette moisissure, au même titre que d'autres, joue probablement un rôle dans le développement actuel de l'asthme dans la population générale.

Ward *et al.* (2014) ont cherché à comprendre l'association entre les allergies respiratoires/l'asthme et la présence de moisissures dans les environnements intérieurs. L'objectif de cette étude était **d'évaluer le potentiel allergisant relatif des moisissures en comparant les réponses allergiques obtenues pour une exposition aux allergènes fongiques à celles induites par les allergènes bien caractérisés des environnements intérieurs (acariens : *Dermatophagoides farinae* et *pteronyssinuss*)**.

Les auteurs ont exposé par instillation intra-trachéale des souris Balb/c femelles à 5, 10, 20, 40 ou 80 µg d'extraits protéiques fongiques afin d'induire (3 premières semaines d'exposition) puis d'évaluer (dernière instillation) la sensibilisation allergique des animaux, comme décrit dans l'étude précédente (Ward, 2010). Certains groupes d'animaux étaient exposés aux allergènes fongiques seuls ou aux acariens seuls durant toute l'expérience. D'autres groupes d'animaux ont été exposés au diluant lors de la phase de sensibilisation puis aux allergènes fongiques (animaux exposés aux extraits protéiques fongiques sans sensibilisation préalable) ou uniquement au diluant durant toute l'étude (groupe contrôle). Le LLBA et le sérum ont été collectés afin d'analyser respectivement la composition cellulaire ainsi que les niveaux d'IgE totales et spécifiques des extraits testés. Les moisissures testées appartiennent à 2 groupes définis d'après les résultats d'études réalisées <u>dans la région de Cleveland</u> : les moisissures du groupe 1 ont été identifiées dans cette étude comme statistiquement plus communes dans les logements ayant subi un dégât

des eaux (*Scopulariopsis brevicaulis*, *Trichoderma viride* et *Wallemia sebi*) ; les moisissures du groupe 2 correspondent selon cette étude aux moisissures présentes dans tous les logements (*Cladosporoides types 1 et 2*).

Les résultats du dosage des IgE sériques totales et spécifiques chez les animaux exposés aux allergènes fongiques sont comparés avec ceux obtenus dans le groupe témoin et chez les animaux exposés sans sensibilisation. Les auteurs ont observé que **les moisissures du groupe 1 induisaient des réponses allergiques faibles à modérées et requéraient des doses plus élevées pour atteindre des taux d'IgE spécifiques analogues à ceux induits par les acariens**. **En comparaison avec les acariens, les moisissures du groupe 2 requéraient de plus faibles doses pour obtenir une réponse similaire.** Les réponses observées pour une exposition aigüe (test de provocation bronchique) suggèrent que certaines moisissures pourraient exacerber les réponses asthmatiques. Cette étude **démontre les différences inter-espèces dans la capacité des moisissures à induire une réponse allergique/asthmatique, incluant des différences dans la dose seuil déclenchant une allergie**. Il est donc nécessaire d'évaluer individuellement les moisissures quant à leur potentiel allergisant.

4.4.2.2 Effets cytotoxiques et inflammations pulmonaires suite à une exposition aux métabolites fongiques

4.4.2.2.1 Exposition aux métabolites de Stachybotrys chartarum

Piecková *et al.*, (2006) ont étudié les **effets cytotoxiques sur le tissu pulmonaire des endo et exo-métabolites de *S. chartarum* pour une exposition** par installation intra-trachéale chez le rat. Selon les souches (chémotypes A et B), *S. chartarum* est capable de produire différentes mycotoxines (satratoxine, verrucarrine…). Les mécanismes des effets pathologiques potentiels de *S. chartarum* sur les voies respiratoires n'ont pas été clairement établis. Plusieurs études conduites chez l'animal indiquent un potentiel cytotoxique et pro-inflammatoire de cette moisissure. Dans cette étude, des rats ont été exposés par instillation intra-trachéale à une dose de 4 mg d'extraits fongiques dissous dans 0,2 ml de diméthylsulfoxyde (DMSO) (solution de concentration 20 mg/ml). Un groupe d'animaux a été exposé à des extrait fongiques contenant les exo-métabolites (contenus dans le milieu de culture), un autre groupe d'animaux a été exposé à des extraits fongiques contenant les endo-métabolites (contenus dans la biomasse), un groupe contrôle positif a été exposé au diacétoxyscirpenol (DAS) (une mycotoxine a fort pouvoir toxique) et le groupe témoin négatif a été exposé à du DMSO. Trois jours après l'exposition, les animaux ont été sacrifiés et les auteurs ont procédé à une analyse des paramètres du LLBA afin d'évaluer les effets cytotoxiques pulmonaires (viabilité et activité phagocytaire des macrophages alvéolaires (MA), activité de plusieurs enzymes : lactate déshydrogénase (LDH), phosphatase acide (PAC) et cathepsine D). Les résultats observés chez les animaux des 2 groupes exposés ont été comparés avec ceux des groupes contrôles.

L'exposition aiguë aux métabolites de *S. chartarum* entraine des effets statistiquement significatifs chez les animaux testés. **La viabilité des MA était fortement diminuée**, **notamment dans le groupe exposé aux exo-métabolites fongiques.** L'activité phagocytaire n'était significativement affectée dans aucun des groupes testés. Les macrophages alvéolaires sont les cellules prédominantes du LLBA, tout changement dans leur nombre est le signe d'une atteinte pulmonaire. Une plus faible viabilité et/ou capacité phagocytaire de ces cellules résulte en une altération de la clairance des substances toxiques inhalées. **Les activités des enzymes lysosomales (PAC et cathepsine D) étaient significativement augmentées dans le groupe exposé aux exo-métabolites**, traduisant la présence de dommages au niveau des tissus pulmonaires. L'augmentation de l'activité de la cathepsine D était également significative dans le groupe exposé aux mycotoxines.

Sur la base des paramètres de cytotoxicité analysés dans cette étude, les auteurs concluent que les différences observées entre les 2 groupes exposés ne sont pas significatives. Les effets du groupe contrôle positif semblent comparables à ceux du groupe exposés aux produits extracellulaires. **L'exposition aux métabolites de *S. chartarum* induit une cytotoxicité**

pulmonaire qui semble être principalement liée à l'exposition aux exo-métabolites ; étant donné que les toxines fongiques se trouvent principalement dans le milieu de culture (exo-métabolites), ces toxines sont plus probablement à l'origine des atteintes pulmonaires observées que les composants de la paroi cellulaire fongique (endo-métabolites).

Quelques années plus tard, Piecková *et al.*, (2009) ont cherché à évaluer le **potentiel inflammatoire à court terme des endo-métabolites et exo-métabolites de *S. chartarum* sur les voies respiratoires.** Les rats ont été exposés par instillation intra-trachéale à une dose de 4 mg d'extraits fongiques dissous dans 0,2 ml de diméthylsulfoxyde (DMSO) (solution de concentration 20 mg/ml). Un groupe d'animaux a été exposé à des extraits fongiques contenant les endo-métabolites, un autre groupe à des extraits contenant les exo-métabolites, un groupe contrôle négatif a été exposé au DMSO seul et un groupe contrôle positif a été exposé au diacétoxyscirpenol (DAS). Trois jours après l'exposition, les animaux ont été sacrifiés afin de récolter puis d'analyser les paramètres du LBA indicatifs d'une inflammation des tissus pulmonaires (nombre total de cellules, nombre de MA, mesure de la viabilité et activité phagocytaire des MA).

Les auteurs ont observé une augmentation significative du nombre total de cellules ainsi qu'une augmentation non significative du nombre de polynucléaires dans le LBA chez les groupes de rats exposés aux endo- et exo-métabolites et au DAS. Le nombre de MA était significativement diminué dans le groupe exposé aux exo-métabolites et dans le groupe exposé au DAS ; parallèlement, ces 2 groupes ont expérimenté une augmentation significative de la proportion de MA jeunes, suggérant une réaction de l'organisme afin de remplacer les MA matures diminués. Les exo-métabolites testés dans cette expérience semblent montrer un potentiel d'inflammation pulmonaire plus élevé que les endo-métabolites.

Cette étude montre l'action inflammatoire pulmonaire des métabolites de *S. chartarum* chez le rat pour une exposition à court terme par inhalation. Les effets d'inflammation pulmonaire sont plus prononcés suite à une exposition aux exo-métabolites, suggérant comme dans l'étude précédente, qu'ils sont susceptibles de causer des effets néfastes plus importants que les constituants des membranes cellulaires (endo-métabolites).

4.4.2.2.2 Exposition aux métabolites d'Aspergillus versicolor

Piecková *et al.* (2011) ont étudié la **toxicité respiratoire d'*Aspergillus versicolor,* espèce fongique produisant de la stérigmatocystine, une mycotoxine connue pour ses effets toxiques *in vivo* et *in vitro* chez l'animal.** Selon les auteurs, la fréquence des souches toxinogènes dans la population d'*A. versicolor* est élevée, environ 74%. Par ailleurs, des rats exposés par inhalation pendant 1 mois à des spores d'*A. versicolor* développent des lésions granulomateuses du tissu pulmonaire, localisées principalement dans la zone péri-bronchique. Les auteurs ont étudié d'une part, la **toxicité *in vitro*** d'un extrait de 20 mg/mL d'endo- et exo-métabolites d'*Aspergillus versicolor* (prélevé dans un environnement intérieur présentant des contaminations fongiques et dont les occupants se sont plaints d'atteintes respiratoires) sur des cellules de trachées de poussins afin de déterminer la capacité des produits testés à faire cesser le battement ciliaire de la trachée après 24, 48 et 72h d'exposition. D'autre part, ils ont mesuré ***in vivo* la toxicité aiguë** du même extrait de métabolites après exposition des rats par instillation intra-trachéale ; mesure de la cytotoxicité pulmonaire sur le LLBA (activité phagocytaire et viabilité des MA, activités enzymatiques de la LDH et de la PA) et mesure de la réaction inflammatoire (nombre total de cellules, nombre de MA, nombre de polynucléaires). Les conditions de l'expérience *in vitro* (nombre d'animaux, mode opératoire, quantité de métabolites testés et durée d'exposition) sont similaires à celles mises en œuvre dans les précédentes études réalisées sur les effets toxiques des métabolites de *S. chartarum* par la même équipe de recherche.

***In vitro*,** tous les isolats testés produisent des mélanges de métabolites secondaires susceptibles de stopper le mouvement ciliaire trachéal des poussins en 24h ; **les mélanges sont hautement toxiques**. *In vivo*, une légère activité cytotoxique non significative a été observée et aucun changement significatif n'a été mis en évidence au niveau des marqueurs de l'inflammation (72

heures après l'exposition). **Il semble que les métabolites d'*A. versicolor* aient un pouvoir cytotoxique moins élevé que les métabolites de *S. chartarum* testés précédemment par les auteurs dans les mêmes conditions**.

4.4.2.2.3 Exposition à la gliotoxine (mycotoxine produite par Aspergillus et Penicillium)

L'asthme est causé par la mise en œuvre de la réponse immunitaire médiée par les Th2 en réponse à une exposition aux allergènes environnementaux. Il est caractérisé par une hyperréactivité et une inflammation chronique des voies aériennes. L'exposition aux moisissures des environnements intérieurs est associée à une augmentation du développement et de l'aggravation des symptômes respiratoires et de l'asthme sans que les mécanismes sous-jacents n'aient été élucidés. Schütze *et al.* (2010) se sont intéressés à l'implication possible de l'exposition par inhalation aux mycotoxines dans l'inflammation allergique des voies aériennes liée à l'exposition aux moisissures. Les mycotoxines sont suspectées de jouer le rôle d'adjuvant. L'exposition aux moisissures dans les environnements intérieurs est fréquemment associée à 2 espèces, *Aspergillus* et *Penicillium*, susceptibles de produire plusieurs mycotoxines parmi lesquelles la gliotoxine, dont l'exposition a lieu principalement *via* l'inhalation de l'air intérieur. Plusieurs études *in vitro* ont montré que cette mycotoxine pouvait affecter la fonction immune mais il existe peu de données sur les effets *in vivo* de cette molécule sur la réponse immunitaire. Afin d'investiguer l'implication de l'exposition aux mycotoxines sur l'inflammation des voies respiratoires, les auteurs ont étudié d'une part, le rôle de l'exposition à la gliotoxine (mycotoxine produite par *Aspergillus* et *Penicillium*) dans le développement d'allergies respiratoires et d'autre part, l'implication de la gliotoxine dans l'aggravation des symptômes allergiques respiratoires sur un modèle murin d'asthme allergique.

Des souris Balb/c ont été préalablement sensibilisées à de l'ovalbumine (OVA) par voie intra-péritonéale puis exposées à de la gliotoxine par voie intra-nasale (0,1 – 100 ng dans du DMSO). Le groupe contrôle négatif a été sensibilisé avec de l'alun puis exposé par voie intra-nasale à une solution saline et le groupe contrôle « OVA » a été sensibilisé à l'OVA puis exposé par voie intra-nasale à une solution saline. Afin d'analyser l'effet d'une exposition aux mycotoxines sur le développement d'une inflammation allergique, les souris sensibilisées ont d'abord été exposées par voie intra-nasale à de l'OVA (J14 et J17) puis exposées à la gliotoxine (J18, 21 et 22). En revanche, pour l'induction de symptômes « asthmatiformes » chroniques, les souris sensibilisées ont été exposées par voie intra-nasale à de l'OVA 2 fois par semaine pendant 8 semaines et la gliotoxine était administrée par voie intra-nasale 1 heure avant chaque exposition à l'OVA. Les groupes contrôles ont été exposés selon le même mode opératoire sauf qu'ils ont reçu une instillation intranasale de solution saline à la place de la gliotoxine. Les auteurs ont ensuite procédé à une série d'examens dont la mesure de l'hyperréactivité des voies aériennes (test de provocation bronchique à la méthacholine), l'analyse des marqueurs de l'inflammation pulmonaire et l'étude du remodelage des voies respiratoires. Par ailleurs, l'effet de l'exposition aux mycotoxines sur l'activité des cellules dendritiques (DC) a été étudié *in vitro* en utilisant des cellules dendritiques dérivées de la moelle osseuse de souris.

L'exposition des souris à la gliotoxine augmente de manière dose-dépendante **l'hyperréactivité des voies aériennes, l'inflammation éosinophile pulmonaires, ainsi que les niveaux sériques d'IgE spécifiques de l'ovalbumine**, comparativement aux souris qui ont reçu seulement l'antigène (OVA). Ces résultats sont corrélés avec une augmentation des niveaux de cytokines Th2 et une diminution de la production d'IFN-γ. L'exposition à la gliotoxine sur le long terme entraine une **exacerbation de l'inflammation chronique des voies respiratoires** et un **remodelage des voies aériennes**. L'exposition *in vitro* ou *in vivo* à la gliotoxine inhibe la production d'IL-12 dans les cellules dendritiques matures et augmente l'inflammation des voies respiratoires. L'exposition à la gliotoxine augmente la peroxydation des lipides pulmonaires induite par l'OVA et augmente de manière modérée les niveaux d'isoprostane (marqueur de stress oxydatif) chez les souris non sensibilisées. Le traitement des cellules dendritiques exposées à la gliotoxine par un antioxydant, de la N-acétylcystéine ou un ester d'éthyle de glutathion restaure la sécrétion d'IL-12 et un prétraitement des souris exposées par de la N-acétylcystéine prévient

l'augmentation de l'inflammation des voies respiratoires et de l'hyperréactivité bronchique induites par la gliotoxine.

Les résultats de cette étude indiquent que la gliotoxine augmente chez la souris la réponse immunitaire allergique médiée par les Th2. Cette mycotoxine serait capable de moduler l'équilibre Th1/Th2 par des effets directs sur la sécrétion d'IL-12 dans les cellules dendritiques et en induisant un stress oxydant. Les auteurs avancent l'hypothèse que cette mycotoxine pourrait interférer avec la production d'IL-12 (cytokine induisant la différenciation des cellules CD4+ en cellules Th1) par les cellules dendritiques et d'IFN-γ (protéine impliquée principalement dans l'activation des cellules NK, des macrophages et des lymphocytes T cytotoxiques) par les cellules T. La diminution de l'activité des cellules dendritiques après l'exposition à la gliotoxine est associée d'une part, à l'inhibition de l'activation du facteur nucléaire (NF-Kβ), impliqué dans la réponse immunitaire *via* la transcription de gènes anti-apoptotiques, et d'autre part, à l'activation des MAP kinase p38, protéines impliquées entre autres dans la synthèse de cytokines pro-inflammatoires, le contrôle de la mitose cellulaire et l'apoptose induite par le monoxyde d'azote. La diminution de la différenciation des Th1 peut expliquer l'effet potentialisateur d'une exposition à la gliotoxine sur la réponse immunitaire médiée par les Th2 comme l'asthme allergique.

Selon les auteurs, ces données suggèrent que les métabolites secondaires des moisissures pourraient jouer un rôle dans le développement et l'aggravation des symptômes respiratoires et de l'asthme, en interférant avec l'activité des cellules dendritiques induisant une diminution de la différenciation des Th1 au profit de la réponse Th2 et un stress oxydant dans les poumons. Ces résultats sont à confirmer par d'autres études.

4.4.2.2.4 Exposition aux composés organiques volatils microbiens

La revue de Korpi *et al.* (2009), actualise les données du rapport du Nordic Expert Group (NEG) publié en 2006 (NEG, 2006a), concernant la toxicité des COV_m par inhalation. Sur les 200 COV_m identifiés dans la littérature, 15 ont été choisi pour une évaluation plus fine des données toxicologiques. Il s'agit des COV_m les plus étudiés et identifiés dans les bâtiments humides ou présentant une contamination microbienne que ce soit des lieux d'habitation et des lieux de travail (activités agricoles et de compostage) :

2-methyl-1-propanol 3-methyl-1-butanol 3-methyl-2-butanol 2-pentanol 3-octanol	1-Octen-3-ol 2-Octen-1-ol 3-Methylfurane 2-Hexanone 2-Heptanone	3-Octanone 2-Methylisoborneol 2-Isopropyl-3-methoxy-pyrazine Geosmine Dimethyl disulfide

D'un point de vue toxicocinétique, l'absorption se fait majoritairement par voie pulmonaire. La plupart sont rapidement métabolisés puis excrétés dans les urines et la bile. Les COVm ne s'accumulent généralement pas dans les tissus. Peu de données toxicologiques sont limitées pour les 15 COV_m étudiés plus spécifiquement dans cette revue.

Chez l'Homme, l'exposition aux COV_m serait incriminée dans les effets irritatifs des yeux et des voies aériennes supérieures potentiellement dus à la stimulation du nerf trijumeau (mécanisme d'irritation sensorielle). Les résultats des études chez l'animal permettent de supporter ces observations chez l'Homme. Chez la souris, une irritation sensorielle dose-dépendante a été mise en évidence pour plusieurs COV_m habituellement rencontrés dans les environnements intérieurs mais à des niveaux d'exposition expérimentaux beaucoup plus élevés.

Les données toxicologiques sur l'exposition par inhalation aux COV_m sont parcellaires. Elles suggèrent une implication des COV_m dans le développement des réponses inflammatoires non allergiques (irritation) observées en lien avec une exposition aux moisissures.

4.4.2.3 <u>Mécanismes immunosuppresseurs potentiellement mis en jeu suivant une exposition aux β-glucanes</u>

Le zymosan est un composant de la paroi des levures contenant des (1-3)-βD-glucanes, eux-mêmes composants majoritaires de la membrane cellulaire des champignons. L'utilisation de

(1-3)-βD-glucanes sur un modèle animal fournit un aperçu des effets néfastes potentiels sur la cellule associés à une exposition aux moisissures.

Après avoir mis en évidence chez le rat le fait qu'une exposition unique à une dose élevée de zymosan (**2,5 mg/kg de poids corporel**) pouvait augmenter la réponse immunitaire (RI) pulmonaire (*via* l'activation des macrophages avant l'infection et la stimulation des cellules T impliquées dans la RI précoce après une infection), Young *et al.*, (2009) ont cherché à comprendre comment l'exposition répétée à de faibles doses de zymosan (0,6 mg/kg de poids corporel) pouvait affecter les défenses pulmonaires de l'organisme vis-à-vis d'une infection bactérienne.

Des rats mâles SD (225-250 g) ont été exposés à J-17, J-14, J-10 et J-7 par instillation intra-trachéale (IT) à des doses de zymosan de **0,6 mg/kg de poids corporel**, avant l'inoculation à j0 d'une infection à Listeria monocytogenes. Après euthanasie des animaux, les auteurs ont procédé à la mesure de la clairance bactérienne, ainsi qu'à l'analyse des marqueurs de lésions et de l'inflammation pulmonaire.

Les auteurs ont observé que chez les animaux exposés au zymosan, la clairance bactérienne pulmonaire ainsi que l'activité des macrophages alvéolaires étaient supprimés rapidement après l'infection. Ce n'est qu'à partir du 5ème jour après inoculation que le nombre de polynucléaires neutrophiles (PNN) et la clairance bactérienne commencent à augmenter dans le groupe exposé au zymosan comparativement au groupe contrôle.

D'après les résultats de cette étude, les auteurs suggèrent qu'**une exposition répétée à de faibles doses de zymosan supprime les défenses de l'hôte contre l'infection bactérienne** en régulant à la baisse la RI innée (Th1). Parallèlement, la réponse Th1 est inhibée par une réponse Th2 dominante.

4.4.3 Effets extra-respiratoires de S. chartarum

Parmi les études toxicologiques analysées, 5 se sont intéressées à des cibles autres que respiratoires de la toxicité des spores et mycotoxines de *S. chartarum.*

4.4.3.1 Effets cardiovasculaires (exposition aux spores *in vivo*)

Ochiai *et al.* (2008) se sont intéressés aux effets cardiovasculaires induits par une exposition à *Stachybotrys chartarum* chez la souris. Le but de l'étude est d'analyser les effets de l'injection intra-trachéale répétée de spores de *S. chartarum* (10^4 spores par injection). Les auteurs ont procédé à des analyses histopathologiques et morphométriques des poumons et du cœur ainsi qu'à une analyse hémodynamique de la circulation sanguine. L'examen histopathologique montre le **développement d'une hypertension artérielle pulmonaire** avec épaississement des parois artérielles pulmonaires, une hypertrophie du ventricule droit et une élévation de la pression systolique ventriculaire.

Nagayoshi *et al.* (2011) se sont intéressés à la **toxicité de *S. chartarum* sur le remodelage des artères pulmonaires dans un modèle murin exposé par voie intra-trachéale.** Un modèle de souris dans lequel l'inhalation répétée de spores de *S. chartarum* entrainait une hypertension pulmonaire a préalablement été élaboré par les auteurs. Afin d'étudier plus en détails ce modèle, notamment concernant la circulation pulmonaire, des souris ddy ont reçu des doses répétées intra-trachéales (18 injections sur 12 semaines) de spores de *S. chartarum* en suspension dans du RPMI-1640 médium : les animaux ont reçu des doses de 5.10^5 spores/injection en vue d'une analyse des liquides de lavage broncho-alvéolaire et de 1.10^4 spores/injection pour la réalisation des analyses histologiques. Afin de comparer les différences entre les voies d'administration, un groupe de souris a reçu 12 injections intra-péritonéales de 1.10^5 spores pendant 4 semaines (n=12). **Une vascularisation sévère des petites et moyennes artères pulmonaires a été observée chez les animaux exposés à *S. chartarum* par voie intra-trachéale**. Ceci était associé à une augmentation des éosinophiles dans les LLBA ainsi que des cytokines de type Th2 associées (IL-4 et IL-5). Les auteurs ont donc observé un **remodelage des artères pulmonaires**

en lien avec une exposition des souris par voie intra-trachéale aux spores de *S. chartarum*. L'effet observé est transitoire, il disparaît à l'arrêt de l'exposition. Cette résorption pourrait être liée soit à l'inhibition des Rho-kinases, soit à des effets directs sur hypertrophie des muscles lisses ou à des effets indirects sur l'inflammation vasculaire. Le remodelage artériel n'a été observé que lorsque les spores étaient instillées directement dans les voies respiratoires par voie intra-trachéale et non après passage dans la circulation systémique suite à une exposition intra-péritonéale.

4.4.3.2 Effets génotoxiques (exposition aux spores *in vitro*)

McCrae *et al.* (2007) ont réalisé une analyse de la génotoxicité des spores de *S. chartarum* par le test des comètes sur des fibroblastes fœtaux. Des cellules primaires de poumons de fœtus ont été exposées à un surnageant de spores pendant 15 min à 24 heures L'exposition pendant 15 min à 14 h, **induit une augmentation de la fragmentation de l'ADN d'une manière dépendante du temps.** Cependant une exposition plus longue (24 heures) montre moins de dommages et suggère que les fibroblastes de poumon ont la capacité de réparer la fragmentation de l'ADN.

4.4.3.3 Effets neurosensoriels (exposition aux métabolites in vivo)

Islam *et al.* (2006) ont exploré la façon dont l'exposition à une mycotoxine de *S. chartarum*, la satratoxine G, était susceptible d'affecter les voies nasales. Les auteurs ont exposé des souris C57BL/6 à de la satratoxine G par injection intranasale (1 injection ou 5 injections, 5 jours consécutifs) à des doses de 5, 25, 100 ou 500 µg/kg de poids corporel.

Les auteurs ont observé qu'une exposition aiguë à la satratoxine G provoque une **apoptose des neurones olfactifs sensoriels dans l'épithélium olfactif**. Une étude de la relation dose-réponse indique qu'à 24 heures, la NOAEL de la satratoxine G est de 5 ug/kg de poids corporel et sa LOAEL est de 25 ug/kg de poids corporel. La sévérité de l'effet augmente avec la dose. La satratoxine G induit également une **rhinite aiguë** ainsi que l'augmentation de l'expression des ARNm codant pour les cytokines pro-inflammatoires (TNF-α, IL-6 et IL-1) dans les cornets ethmoïdaux des voies aériennes nasales et dans le bulbe olfactif du cerveau adjacent. Une atrophie marquée du nerf olfactif et des couches glomérulaires du bulbe olfactif était aussi visible à 7 jours, accompagnée d'une encéphalite.

Selon les auteurs, ces résultats suggèrent que la neurotoxicité et l'inflammation des voies nasales et du cerveau sont des effets sanitaires potentiels d'une exposition aux satratoxines et plus largement à *Stachybotrys* dans l'air intérieur des bâtiments ayant subi des dégâts des eaux.

4.4.3.4 Effets hématotoxiques (exposition aux métabolites *in vivo*)

Piecková *et al.* (2009) se sont intéressés aux effets hématotoxiques des endo- et exo-métabolites de *S. chartarum*. Des rats ont été exposés par instillation intra-trachéale à une dose de 4 mg d'extraits fongiques dissous dans 0,2 ml de diméthylsulfoxyde (DMSO) (solution de concentration 20 mg/ml). Un groupe d'animaux a été exposé à des extraits fongiques contenant les endo-métabolites, un autre groupe à des extraits contenant les exo-métabolites, un groupe contrôle négatif a été exposé au DMSO seul et un groupe contrôle positif a été exposé au DAS. Le sang périphérique des animaux a été récolté avant leur sacrifice afin d'analyser la paramètres sanguins (dénombrement des globules rouges, globules blancs, plaquettes, hématocrite, hémoglobinémie…) et évaluer l'hématotoxicité des métabolites testés.

Chez les rats exposés aux exo-métabolites, les auteurs ont observé plusieurs signes d'hématotoxicité : une chute significative des globules rouges et globules blancs, ainsi que de l'hémoglobinémie et de l'hématocrite. Les auteurs attribuent ces effets à la marque d'une exposition à l'hémolysine fongique de *S. chartarum*, la stachylysine, connue pour diminuer la concentration d'hémoglobine et de certains composés sidérophores, entrainant une baisse de l'hématocrite. Cette étude montre l'hématotoxicité des exo-métabolites de *S. chartarum* chez le rat pour une exposition à court terme par inhalation. Les effets toxiques sont plus prononcés suite à une exposition aux exo-métabolites, suggérant, comme dans l'étude de Piecková *et al.*, (2006),

qu'ils sont susceptibles de causer des effets néfastes plus importants que les constituants des membranes cellulaires (endo-métabolites).

4.4.4 Conclusions sur l'apport des données toxicologiques

Les résultats des études chez l'animal fournissent des informations sur les aérobiocontaminants fongiques potentiellement dangereux pour la santé et permettent de supporter les observations issues des données épidémiologiques. Bien que l'extrapolation directe à l'Homme des résultats issus des données expérimentales soit soumise à plusieurs limites, ces études apportent des informations importantes sur les mécanismes toxicologiques possibles à l'origine des effets sur la santé observés chez les individus exposés aux environnements intérieurs humides.

Les données toxicologiques décrites dans ce chapitre concernent différents effets sanitaires ou mécanismes toxiques observés suite à une exposition aux aérobiocontaminants fongiques. Les données recensées se rapportent presque exclusivement à des effets respiratoires. Les données recensées permettent de réaffirmer l'implication potentielle de différents mécanismes dans les effets observés chez l'Homme en lien avec une exposition aux aérobiocontaminants fongiques : mécanismes allergiques (réactions IgG ou IgE dépendantes) et exposition aux spores fongiques ; effets cytotoxiques et inflammation respiratoires et métabolites fongiques ; immunomodulation et probable immunosuppression et β-glucanes.

Le rôle potentiel d'une exposition aux moisissures dans le développement ou l'exacerbation des allergies respiratoires et notamment de l'asthme a été investigué. Plusieurs études ont observé une induction et une augmentation d'une hyperréactivité bronchique caractéristique de l'asthme ; l'aggravation des symptômes « asthmatiformes » a également été décrite dans plusieurs études, indiquant une possible exacerbation de l'asthme. L'implication de la sensibilisation aux moisissures dans la sévérité des réponses inflammatoire et allergique pulmonaires est également observée dans plusieurs études (augmentation de l'hyperréactivité bronchique, exacerbation des symptômes asthmatiformes).

Certaines études proposent des estimations du seuil d'allergénicité en lien avec l'exposition des animaux par voie respiratoire à quelques espèces de moisissures en comparaison avec une exposition aux acariens ; le pouvoir allergisant de *Penicillium* semble ainsi supérieur à celui des acariens (qui sont des allergènes puissants) et il s'avère que la relation dose réponse pour le déclenchement de la réponse allergique est propre à chaque couple espèce-hôte.

Parmi les études recensées, une étude suggère l'implication possible de l'exposition par inhalation aux mycotoxines dans l'inflammation allergique des voies aériennes liée à l'exposition aux moisissures ; les mycotoxines sont suspectées de jouer le rôle d'adjuvant.

Les données toxicologiques sur l'exposition par inhalation aux COV_m sont parcellaires. Elles suggèrent une implication des COV_m dans le développement des réponses inflammatoires non allergiques (irritation) observées en lien avec une exposition aux moisissures.

Des cibles extra-respiratoires de la toxicité des spores et mycotoxines de *S. chartarum* sont également décrites : effets neurosensoriels (toxicité sur la fonction olfactive) d'une mycotoxine de *S. chartarum*, la satratoxine G ; effets hématotoxiques des métabolites de *Stachybotrys chartarum ;* effets génotoxiques et cardiovasculaires des spores de *S. chartarum*.

L'interprétation des résultats observés dans les études chez l'animal en vue d'une transposition aux expositions humaines est soumise à plusieurs limites. Les niveaux d'exposition mis en œuvre dans les études expérimentales sont bien supérieurs (plusieurs ordres de grandeur) à ceux rencontrés dans les environnements intérieurs. A cela s'ajoute les différences inter-espèces entre l'Homme et les rongeurs testés dans les études, qu'il s'agisse de la sensibilité vis-à-vis des aérobiocontaminants fongiques ou de la structure et du volume des organes respiratoires. Par ailleurs, les comparaisons inter-études sont difficiles compte tenu des différences méthodologiques observées d'une étude à l'autre. De surcroit, la plupart des modèles animaux utilisés pour l'étude des réactions allergiques ont été sensibilisés non pas aux moisissures mais à l'ovalbumine limitant

l'interprétation de ces résultats. Ainsi les résultats observés chez l'animal ne sont pas transposables à l'Homme.

Il est également à noter que les études ne précisent pas systématiquement si les extraits fongiques testés sont dépourvus d'endotoxines, susceptibles d'influencer les effets observés ; il est néanmoins plus que probable que les études récentes aient tenu compte de ce paramètre.

L'analyse du rapport du Nordic Expert Group (NEG, 2006) consacré aux effets sanitaires liés à une exposition par voie respiratoire aux spores fongiques et spores d'actinomycètes a conduit le GT « Moisissures » à ne pas intégrer les données toxicologiques recensées dans ce chapitre à la réflexion sur la relation dose-réponse. En effet, il s'avère que la méthodologie mise en œuvre dans ce rapport pour l'analyse des données toxicologiques (détaillée en Annexe 13) souligne les limites d'utilisation des données chez l'animal pour l'extrapolation d'une relation dose-réponse et conclut à l'inadéquation des données toxicologiques pour la définition d'un seuil.

4.5 Conclusions

Sur le plan épidémiologique, les effets de l'exposition aux moisissures sur la santé respiratoire sont démontrés essentiellement pour l'asthme de l'enfant avec des arguments forts suggérant la causalité. Les études indiquent en effet que la présence observée de moisissures dans les pièces à vivre et odeur de moisi, étudiée conjointement ou non avec l'humidité, est associée au développement de l'asthme chez le jeune enfant (étude de cohorte de naissance, asthme incident, méta-analyses). Les études, notamment les études de panel, montrent aussi que l'exposition aux moisissures aggrave les symptômes d'asthme chez l'enfant. Seule l'exposition à *Penicillium* (mis en évidence en culture après prélèvements d'air) est associée à l'aggravation des symptômes respiratoires.

Les données chez l'adulte sont peu nombreuses. En population générale, il n'est pas possible de conclure. Mais l'exposition à l'humidité et aux moisissures sur le lieu professionnel a été mise en relation avec l'incidence et la morbidité de l'asthme.

Pour la rhinite, les données de la littérature indiquent l'existence d'une relation entre l'exposition aux moisissures visibles et le risque de rhinite allergique, avec une augmentation du risque chez les personnes exposées, relativement cohérente entre les études. Toutefois, la plupart de ces études sont basées sur des estimations provenant d'enquêtes transversales. En raison d'un manque d'études longitudinales portant spécifiquement sur la présence de moisissure, il n'est pas possible actuellement de conclure à l'existence d'une relation causale.

Les études épidémiologiques présentant une caractérisation quantitative des expositions sont hétérogènes (diversité des méthodes de mesure) et ne permettent pas de définir un seuil sanitaire[17]. L'analyse globale des données relatives à la relation dose-réponse confirment que la définition de concentrations critiques pour l'exposition aux moisissures associées (ou non) à la survenue d'effets respiratoires n'est pas possible à partir des données épidémiologiques publiées depuis 2006. La complexité d'établir une relation dose-réponse dans le domaine de l'exposition aux moisissures repose notamment sur les difficultés de caractérisation des expositions dans les études épidémiologiques avec une part très importante d'approche qualitative rapportant la présence ou non de moisissures dans le lieu fréquenté. De plus, un manque de consensus sur la méthode d'évaluation de l'exposition aux moisissures a amené une diversité de stratégie de prélèvement et d'analyse ne permettant pas de confronter les données et d'avoir un faisceau d'argument sur la base de différentes relations doses-réponses en lien avec différentes populations et niveaux d'exposition.

[17] Seuil sanitaire correspond à un niveau de concentration en dessous duquel aucun effet sur la santé n'est attendu pour la population générale

Sur le plan toxicologique, les études chez l'animal analysées permettent de renforcer les connaissances quant aux réponses inflammatoires allergiques (réactions IgG ou IgE dépendantes), inflammatoires non allergiques, cytotoxiques et immunosuppressives (β-glucanes) mises en jeu suivant une exposition aux spores, métabolites et composants fongiques.

La confrontation des conclusions de la présente expertise avec celles de l'IOM et de l'OMS se réfère à la classification du niveau de preuve utilisée par ces 2 organismes (Annexe 9).

Pour le risque d'asthme, cette expertise fait la distinction entre les données chez l'enfant et l'adulte en fonction de l'indicateur d'exposition (observation visuelle rapportée ou renseignée par une inspection et la mesure d'espèces fongiques ou de métabolites). Chez l'enfant, l'expertise a mis en évidence des arguments forts suggérant la causalité pour le développement et l'exacerbation de l'asthme. Hormis la relation dose-réponse, tous les critères requis pour l'établissement d'une causalité sont remplis.

L'existence d'une relation causale est toutefois retenue compte tenu de la complexité d'étudier la relation dose-réponse dans le contexte spécifique d'une exposition aux moisissures des environnements intérieurs. L'OMS considérait déjà en 2009 que le niveau de preuve concernant l'exacerbation de l'asthme satisfaisait quasiment les critères requis pour l'établissement d'une causalité.

Chez l'adulte, le niveau de preuve a été jugé suffisant pour l'asthme des travailleurs exposés sur le lieu de travail. En population générale, les données sont insuffisantes amenant à conclure à un niveau de preuve limité.

Pour la rhinite allergique, la cohérence des données issues d'études transversales et méta-analyse permet d'établir un niveau de preuve suffisant.

Pour les effets neurologiques, des premières données suggèrent une association entre l'exposition de longue durée aux moisissures (> 2 ans) des enfants dès la petite enfance et l'altération de la fonction cognitive ; un niveau de preuve limitée est associé.

Enfin les autres effets étudiés, le syndrome du bâtiment malsain et les effets psychologiques en population générale sont peu documentés et sont considérés avec un niveau de preuve insuffisant.

Concernant les données chez l'animal, les rapports d'expertise antérieurs (OMS 2009 ; IOM 2004) se sont intéressés aux études décrivant la capacité des expositions microbiennes associées aux environnements intérieurs humides à induire une activation des mécanismes toxicologiques potentiels suivants : immunostimulation et allergies, auto-immunité, cytotoxicité et immunosuppression, neurotoxicité, génotoxicité, toxicité pour la reproduction et irritation. Les études analysées précédemment ont ainsi permis de mettre en évidence diverses réponses inflammatoires, cytotoxiques et immunosuppressives suite à une exposition aux spores, métabolites et composants des espèces microbiennes présentes dans les environnements intérieurs humides, permettant de conforter la plausibilité des résultats épidémiologiques.

Comparativement aux informations soulevées dans les rapports antérieurs, les données analysées dans ce chapitre permettent de conforter : le rôle central des réponses inflammatoires dans l'induction d'effets sanitaires respiratoires, l'importance du statut sensibilisé/non sensibilisé dans l'intensité de la réponse inflammatoire, l'induction d'effets cytotoxiques liés à une exposition aux métabolites fongiques ainsi que le pouvoir immunosuppresseur des β-glucanes. Comme précisé dans les rapports précédents, la plupart des données toxicologiques disponibles concernent les effets induits par l'espèce *S. chartarum* et ses toxines.

Concernant les cibles possibles de la toxicité extra-respiratoire de *S. chartarum*, les études analysées dans le cadre de ce rapport portent sur le potentiel génotoxique de *S. chartarum* évoqué dans les expertises antérieures. Les effets hématotoxiques observés dans une étude permet de discuter de l'implication de *S. chartarum* dans l'épidémie d'hémorragies pulmonaires observée dans un cluster d'enfant à Cleveland dans les années 80. Il est par ailleurs déjà établi que la stachylysine produite par *S. chartarum* est une mycotoxine hémolytique. Les possibles effets

toxiques de *S. chartarum* sur le système cardiovasculaire n'avaient pas été mentionnés lors des expertises antérieures ; une seule étude ne suffit pas pour tirer des conclusions. Concernant les potentiels effets neurosensoriels, une atteinte de l'olfaction avait déjà été envisagée pour les COVm dans les rapports précédents, mais jamais documentée concernant *S. chartarum.*

Tableau 18 : Résumé des conclusions de l'IOM (2004), de celles de l'OMS (2009) et de la présente expertise concernant les liens entre la présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements humides et la survenue d'asthme, rhinite allergique, effets neurologiques et psychologiques selon la classification du niveau de preuve détaillée en Annexe 9

Effet sanitaire	**Conclusions de l'IOM (2004)** Présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements humides et survenue d'effets sanitaires **Analyse des études épidémiologiques principalement transversales parues jusqu'à fin 2003**	**Conclusions de l'OMS (2009)** Environnements humides et survenue d'effets respiratoires **Analyse des données épidémiologiques principalement transversales parues de mi 2003 à 2007**	**Conclusions de la présente expertise** Présence de moisissures et survenue d'effets sanitaires **Analyse des méta-analyses, revues systématiques et études longitudinales parues de 2007 à 2015**
Développement d'asthme	***Preuves suffisantes d'une association :*** Sifflements ***Preuves limitées d'une association :*** Pathologies des voies respiratoires inférieures chez les enfants en bonne santé ***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Développement d'asthmePathologies des voies respiratoires inférieures chez les adultes en bonne santé	***Preuves suffisantes d'une association :*** Développement d'asthme Respiration sifflante Asthme actuel ***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Asthme toujours	__Chez l'enfant__ ***Preuves suffisantes d'une relation causale*** __Chez l'adulte__ ***Preuves suffisantes d'une association*** : asthme lié à l'exposition sur le lieu de travail ***Preuves limitées d'une association*** chez l'adulte en population générale
Exacerbation de l'asthme	***Preuves suffisantes d'une association :*** symptômes d'asthme chez les personnes asthmatiques sensibilisées	***Preuves suffisantes d'une association***	
Rhinite allergique	Non évalué individuellement ***Preuves suffisantes d'une association :*** Symptômes des voies aériennes supérieures (maux de gorge, conjonctivite, rhinite allergique et symptômes d'irritation des voies nasales tels que congestion ou écoulements)	***Preuves suffisantes d'une association :*** Symptômes des voies aériennes supérieures ***Preuves limitées d'une association :*** Rhinite allergique ***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Allergie ou atopie	***Preuves suffisantes d'une association***
Autres effets respiratoires	***Preuves suffisantes d'une association :*** Pneumopathie d'hypersensibilité chez les personnes sensibles aux bactéries et moisissures des environnements intérieurs Toux ***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Dyspnée (difficulté à respirer) Obstruction des voies respiratoires (chez des individus en bonne santé) Syndrome d'irritation des muqueuses Broncho-pneumopathie chronique obstructive Fièvres d'inhalation (expositions non professionnelles)	***Preuves suffisantes d'une association :*** Toux Dyspnée Infections respiratoires ***Preuves limitées d'une association :*** Bronchites ***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Altération de fonction pulmonaire	Non évalué individuellement
Effets neurologiques	***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Symptômes neuropsychiatriques	Non évalué	***Preuves limitées d'une association*** : Altération de la fonction cognitive chez l'enfant pour des expositions de longue durée (> 2 ans) aux moisissures dès la petite enfance
Effets psychologiques			***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Syndrome du bâtiment malsain Effets psychologiques
Autres effets	***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Troubles rhumatologiques et autres maladies du système immunitaire Hémorragie pulmonaire idiopathique aiguë chez les nourrissons (hémosidérose) Symptômes d'irritation cutanée Troubles gastro-intestinaux Fatigue Cancer Effets sur la reproduction	Non évalué	Non évalué

5 Populations à risque

5.1 Objectif et approche retenue

Ce chapitre vise à caractériser les groupes d'individus les plus à risque en termes d'effets sur la santé en lien avec une exposition à des moisissures dans les environnements intérieurs.

Afin de répondre à cet objectif, deux grandes catégories de population à risque ont été considérées :

- Les individus présentant **un risque de surexposition de par leurs caractéristiques socio-économiques**. La présence de moisissures dans un logement est fréquemment le résultat de la précarité énergétique du ménage. Par ailleurs, les statuts et conditions d'occupation, et en particulier la sur-occupation d'un logement apparaissent comme des déterminants majeurs. L'interaction entre les conditions techniques du logement et les caractéristiques du ménage qui l'occupe conduit dans certaines situations à un taux d'hygrométrie à l'intérieur du logement qui favorise le développement des moisissures. Enfin, la situation géographique des logements est un déterminant également évoqué dans quelques articles scientifiques.
- Les individus présentant **une sensibilité proprement dite** (âges extrêmes de la vie, pathologies pré-existantes, terrain atopique) vis-à-vis d'une exposition aux aérobiocontaminants fongiques. De par leur condition, ces personnes sont davantage susceptibles de développer des problèmes de santé lorsqu'elles sont exposées aux moisissures que le reste de la population. En outre, le développement de certains effets sanitaires induits par les moisissures (infections fongiques invasives notamment) est conditionné par l'état physiologique ou le statut immunologique des sujets exposés (INSPQ, 2002 ; Santé Canada, 2004 ; CSHPF, 2006).

Plusieurs sources de données ont été mobilisées : données épidémiologiques publiées dans des revues à comité de lecture, rapports institutionnels français et internationaux…

L'essentiel des résultats de recherches discutés concernant les groupes de populations présentant un risque de surexposition de par leurs caractéristiques socio-économiques provient de rapports institutionnels, français et étrangers. En effet, parmi les articles scientifiques publiés, très peu permettent de déterminer quels groupes de populations d'un point de vue social sont les plus concernées par l'exposition aux moisissures. Les rapports et articles analysés indiquent que les moisissures peuvent être observées dans les logements de l'ensemble des populations, mais que les niveaux d'exposition importants et les effets sanitaires liés à la présence de moisissures concernent surtout les populations défavorisées.

Les recherches portent très rarement sur des comparaisons entre sous-groupes et les inégalités d'exposition aux moisissures de différents groupes de populations sont donc relativement peu connues. Il n'y pas non plus dans les travaux publiés dans des revues scientifiques d'éléments sur les comportements individuels relatifs aux modes d'habitation, le statut d'occupation, la représentation qu'ont les populations spécifiquement de la moisissure dans le logement ou encore sur le contexte de l'environnement extérieur (type de quartier, pollutions...). Soulignons enfin que dans les articles publiés par des chercheurs et institutions américains la question de l'origine ethnique est fréquemment étudiée, alors qu'elle ne l'est pas du tout dans les travaux français.

La revue de la littérature mise en œuvre et l'expertise des membres du groupe de travail ont permis de caractériser des groupes de populations présentant une sensibilité proprement dite.

5.2 Déterminants sociaux et géographiques de l'exposition

Les caractéristiques fréquemment mises à jour sont soit les conditions d'humidité du logement, soit liées aux statuts et conditions d'occupation, soit à une interaction entre les caractéristiques techniques du logement et les caractéristiques socioéconomiques du ménage qui l'occupe.

En l'absence d'études plus approfondies sur les caractéristiques des ménages vivant dans un logement moisi, une analyse descriptive des principaux déterminants de l'exposition a été réalisée. Il s'agit ici de comprendre quels sont les mécanismes permettant l'apparition de conditions favorables au développement de moisissures, notamment au travers d'une humidité accrue.

D'après la société américaine d'ingénierie du chauffage, climatisation (ASHRAE, 2012), les sources à l'origine de la présence de moisissures peuvent être identifiées comme suit :

- L'infiltration d'eau de pluie
- Le manque de ventilation
- Le chauffage insuffisant
- Les matériaux de construction endommagés
- L'augmentation de l'humidité
- Les sources d'humidité internes
- Les vides sanitaires non ventilés
- Les fuites sur la plomberie
- La propagation de contaminants par le système de chauffage, ventilation et climatisation (CVC)[18]
- Les inondations

Ces éléments vont donc faire l'objet d'une attention particulière dans ce chapitre et le suivant. Ces sources peuvent être rattachées directement au bâti (conception), ou alors à l'occupation qu'il en est fait par ses habitants. Dans l'optique de décrire les populations concernées, des études permettant d'avoir des informations sur les logements humides, les logements en suroccupation et ceux en précarité énergétique, et de façon plus générale, concernant l'habitat dégradé, ont été prises en compte (Enquête Nationale Logement (ENL), Enquête Santé et Protection Sociale (ESPS), campagne logement de l'OQAI).

5.2.1 Précarité énergétique

L'observatoire national de la précarité énergétique (ONPE) propose la combinaison de trois approches pour bâtir des indicateurs de la précarité énergétique (ONPE, 2014) :

- l'effort financier via un indicateur monétaire : poids dans le budget du ménage des factures d'énergie du logement, représentant 2,7 millions de ménages ;
- le comportement de restriction via la différence entre dépense réelle et dépense théorique (différence entre la facture réelle d'énergie pour le logement et l'estimation théorique de la dépense pour chauffer normalement le logement), représentant 3,4 millions de ménages ;

[18] Le terme CVC (en anglais HVAC (Heating, ventilation, air conditioning)) usuellement utilisé au niveau mondial, fait référence à des systèmes regroupant les équipements nécessaires pour le chauffage, la ventilation et la climatisation à l'échelle d'un bâtiment : chaudières/chaufferies, refroidisseurs, centrales de traitement d'air (CTA), ventilateurs d'extraction, filtres, conduits (EPA, 1991). Mais tous les systèmes ne sont pas conçus pour répondre à ces 3 fonctions. Une diversité de systèmes est soulignée et peut être représentée par un appareil autonome jusqu'à des systèmes centralisés desservant de multiples zones (EPA, 1991).

- le ressenti de l'inconfort thermique via un indicateur subjectif, par exemple l'indicateur «avoir froid dans son logement en hiver », représentant 1,3 million de ménages.

Ces trois indicateurs ne recouvrent pas les mêmes groupes de populations. En retenant les ménages concernés par l'ensemble des trois indicateurs, l'ONPE établit dans son rapport de 2014 que ce sont 280 000 logements qui sont en précarité énergétique. Mais en cumulant les trois indicateurs, en prenant la précaution de retirer les doublons, l'ONPE estime alors 5,1 million de ménages qui sont concernés, représentant 11,5 millions de personnes, soit 20% de la population française. En ne s'en tenant qu'aux ménages ressentant le froid dans leur logement en raison de l'une des trois causes associées à des situations de précarité énergétique (système de chauffage insuffisant, mauvaise isolation, contraintes financières), l'ONPE considère que 11,4% des ménages sont concernés.

Trois études identifiées sur le confort thermique et la précarité énergétique indiquent un lien entre cette dernière et la présence de moisissures dans le logement.

En 2015, Sharpe *et al.* (2015b) réalisent une étude sur le lien entre précarité énergétique et risque de contamination d'un logement par les moisissures auprès des occupants de 671 logements sociaux dans le sud-ouest de l'Angleterre. Les participants de l'étude ayant un chauffage insuffisant ou n'ayant pas du tout de chauffage pour une raison de coût avaient un risque accru de contamination de leur logement par des moisissures (OR = 3,4 ; $CI_{95\%}$ [2,0-5,8] et OR = 2,2 ; $CI_{95\%}$ [1,5-3,2], respectivement). Leurs travaux ont confirmé des résultats d'Oreszczyn *et al.* (2006) qui ont mis en évidence dans une étude portant sur 1604 logements en Angleterre que les ménages ayant déclaré avoir des difficultés pour payer leurs factures ou étant insatisfaits de leur chauffage présentent un risque accru de contamination du logement par des moisissures (OR=2,2 ; $CI_{95\%}$ [1,55–2,70] et OR = 2,05 ; $CI_{95\%}$ [1,55–2,70], respectivement).

Au niveau français, Ledésert (2013) dans une analyse conjointe de deux enquêtes transversales de type exposés non exposés auprès de 750 personnes dans 362 logements sur la précarité énergétique et la santé dans la région de Douai et l'Hérault, indique qu'il y a de la moisissure dans 64% des logements en précarité énergétique versus 17% des logements qui ne sont pas en précarité énergétique. Il détermine que dans toutes les pièces, les moisissures sont, de manière statistiquement significative, plus souvent signalées dans les logements des ménages en situation de précarité énergétique.

En France, la loi Grenelle 2 du 12 juillet 2010 a posé le cadre juridique de la lutte contre la précarité énergétique. La définition retenue est la suivante : « *Est en situation de précarité énergétique une personne qui éprouve dans son logement des difficultés particulières à disposer de la fourniture d'énergie nécessaire à la satisfaction de ses besoins élémentaires en raison de l'inadaptation de ses ressources ou de ses conditions d'habitat*. »

Selon l'analyse faite par l'InVS de l'enquête ESPS 2010, 9% des ménages métropolitains souffrent du froid dans leur logement pour ces mêmes trois raisons.

Cochez *et al.* (2015) estiment qu'en 2008 14,6 % des ménages en France métropolitaine sont en situation de précarité énergétique.

5.2.2 Suroccupation

La définition de l'Insee de la suroccupation repose sur la composition du ménage et le nombre de pièces du logement. Un logement est sur-occupé quand il lui manque au moins une pièce par rapport à la norme d'« occupation normale », fondée sur :

- une pièce de séjour pour le ménage,
- une pièce pour chaque personne de référence d'une famille,
- une pièce pour les personnes hors famille non célibataires ou les célibataires de 19 ans et plus, et, pour les célibataires de moins de 19 ans,
- une pièce pour deux enfants s'ils sont de même sexe ou ont moins de 7 ans,

- sinon, une pièce par enfant.

Lacroix (2011) dans le recensement de la population en 2010 a extrait les aires urbaines où la suroccupation de logements est la plus élevée. Derrière les quatre départements d'Outre-mer qui sont les plus concernés, 3 régions métropolitaines approchent le seuil de 10% de résidence principale en situation de suroccupation : Ile-de-France (19,2%), Provence-Alpes-Côte d'Azur (12%) et Corse (9,6%).

Cinq études identifient un lien entre une suroccupation de l'habitat et la présence de moisissures dans le logement.

D'après Host *et al.* (2010) en Île-de-France, la présence de moisissures visibles était liée pour partie à la suroccupation, 63% des logements suroccupés ayant des moisissures visibles contre 15% de ceux non suroccupés.

Hulin *et al.* (2013) ont évalué l'exposition aux moisissures de 897 individus vivant dans 431 logements *via* la mise en œuvre de l'indice de contamination fongique (ICF) développé par le CSTB reposant sur le mesure des composés organiques volatils microbiens (COVm) présenté en détail dans le chapitre 0. Dans cette étude, parmi les trois caractéristiques de l'habitat positivement associées aux moisissures, une densité d'occupation du logement élevée a été identifiée[19].

Les résultats de Rocchi *et al.* (2015) confirment le lien entre la sur-occupation et la présence de moisissures dans les logements. Dans une étude sur 3 193 logements en France la présence d'une ou plusieurs des six espèces fongiques analysées par qPCR est clairement liée au taux d'occupation des logements.

D'après les données françaises de la campagne nationale Logement de l'OQAI décrite dans le chapitre 2.4, l'adéquation de la taille du logement au nombre d'occupants est moindre dans les logements avec moisissures, dont 21% (contre 11%) présentent un rapport du volume disponible par occupant inférieur à 50m^3 par personne (environ 20m^2 par personne). Seuls 35% des logements avec moisissures présentent un rapport volume/occupant supérieur à 100m^3 par personne contre 50% des autres logements.

Selon l'analyse faite par l'InVS de l'enquête ESPS 2010, il apparaît que 7% des ménages en métropole sont en suroccupation.

Les premières analyses de l'enquête Logement 2013 de l'Insee indique une légère augmentation de la suroccupation, en particulier dans l'habitat collectif, alors que depuis 1984 elle avait régulièrement diminué.

Tableau 19 : Ménages en situation de suroccupation, selon le type d'habitat (source : Insee, Enquête Logement 2013)

Type d'habitat	1984	1996	2001	2006	2013
Individuel (en %)	11,2	5,9	4,9	3,6	3,0
Collectif (en %)	22,9	17,9	16,5	14,7	16,0
Ensemble	**16,5**	**11,0**	**9,8**	**8,4**	**8,5**

Champ : France métropolitaine, résidences principales, hors ménages dont la personne de référence est étudiante.

[19] Le modèle multivarié développé dans cette étude indique une prévalence plus élevée de l'index fongique avec les variables suivantes : infiltration de l'eau : OR = 1,92 IC 95% [1,13 ; 3,27] ; condensation sur les fenêtres : OR = 2,81 IC 95% [1,17 ; 6,75] ; densité d'occupation OR = 1,20 IC 95% [1,06 ; 1,37] (pour une augmentation de 0,01 personnes / m²)

5.2.3 Comportement et usages des occupants

D'après l'analyse des données de l'OQAI, la présence de fumeurs fumant dans le volume du logement est plus importante parmi ceux qui signalent la présence de moisissures (50 % contre 36 %). La part de ménages qui sortent leurs ordures ménagères moins de 2 fois par semaine est plus importante dans les logements avec moisissures (17 % contre 5 %). Les logements avec moisissures ont le plus souvent des animaux domestiques (69 % contre 49 %). Rocchi *et al.* (2015) identifient un lien entre présence d'une ou plusieurs des six espèces fongiques analysées par qPCR et la présence d'animaux domestiques dans le logement.

Il est également intéressant de noter que 44 % des occupants des logements avec moisissures perçoivent la qualité de l'air de leur logement comme agréable (contre 60 % dans les autres logements). Néanmoins, 8 % d'entre eux jugent cet air désagréable (contre 2 % dans les autres logements). La principale source d'insatisfaction est la trop forte humidité de l'air (21 % contre 6 %) et l'air trop confiné (12 % contre 8 %).

L'analyse qualitative des entretiens réalisés dans le cadre de l'étude Qualisurv-Habitat (InVS, 2014), sur les conditions de vie en habitat dégradé, par l'InVS, auprès de 32 ménages vivant en habitat dégradé dans trois régions de métropole (Ile-de-France, Provence-Alpes-Côte d'Azur et Nord-Pas-de-Calais) analyse les comportements des personnes confrontées, entre autres, à la moisissure dans leur logement. Une première série de comportements est liée à l'entretien du logement avec d'une part le nettoyage des moisissures, et d'autre part les réparations et travaux de bricolage pour lutter contre les effets de l'humidité et de la moisissure. Cela est confirmé par les auditions réalisées dans le cadre de cette expertise (cf. 7.2.1 et Annexe 7).

Ces différentes activités occupent un temps important dans le quotidien des ménages. Néanmoins, ce temps tend à décroître avec le temps, quand les familles s'épuisent dans ce travail de Sisyphe. Une deuxième série de comportements est liée à la dégradation des objets et vêtements. Ils doivent être régulièrement changés, entrainant des coûts importants. La moisissure endommage les objets, les imprègnent d'une odeur dont on ne peut se défaire. L'humidité détériore les objets, en particulier le matériel électrique.

Le renouvellement du matériel conduit les familles à des frais supplémentaires parfois importants.

Enfin, l'usage même du logement peut être modifié, certaines pièces, trop atteintes par la dégradation du logement étant condamnées, conduisant à une suroccupation.

Le sentiment de honte associé à la vie dans un logement dégradé conduit les personnes à un repli sur elles-mêmes. Elles indiquent ne plus inviter d'amis ou de membres de leur famille afin de ne pas exposer leurs conditions de vie et refusent les invitations que ces connaissances pourraient leur faire afin de ne pas être redevables d'une invitation qu'elles ne peuvent rendre. Sachant que les familles concernées sont fréquemment des familles monoparentales, le fait de vivre dans un logement dégradé renforce un isolement social déjà important du fait de la condition familiale.

En réaction à la dégradation de leurs conditions de logement, les ménages multiplient les démarches auprès des différents services en mesure de les aider à changer de logement. Les services de l'hygiène publique, susceptibles de prendre les arrêtés, les services sociaux qui suivent les demandes de relogement, les services de santé qui peuvent appuyer par un avis médical la demande de relogement ainsi que les élus sont mobilisés autour de ces situations. Néanmoins, les ménages expriment fréquemment un sentiment de lassitude face à la longueur des procédures et au sentiment de l'inefficacité de ces démarches.

5.2.4 Situation géographique et contexte du lieu d'habitation

En dehors d'étude de comparaisons de la présence de moisissures et d'humidité dans les bâtiments et des logements dans différents pays, très peu d'études ont pour objectif de déterminer s'il existe des inégalités géographiques de l'exposition aux moisissures dans les logements. Il y a

en outre très peu d'études dans lesquelles les liens entre la présence de moisissures dans les logements et la santé des occupants diffèrent en fonction du lieu d'habitation.

Le rôle de la localisation des logements comme élément déterminant l'inégale présence de moisissures dans les logements est abordé dans un premier ensemble de travaux qui s'intéresse à la répartition spatiale régionale de la contamination des logements par les moisissures.

En 2011, Vesper *et al.* (2011b) initient aux Etats-Unis une étude globale pour mieux connaître la répartition géographique des moisissures dans les logements. L'objectif est de quantifier et décrire la distribution spatiale des 36 espèces de moisissures qui composent l'index relatif de moisissure (ERMI – cf. chapitre 3.2.3.3). Les auteurs ont examiné la répartition géographique de chacune des 36 espèces, puis effectué une analyse de cluster pour rechercher une éventuelle organisation spatiale de ces espèces. La mise en relation des coordonnées des longitudes et latitudes des logements avec l'index relatif de moisissure a indiqué que la présence d'une vingtaine d'espèces dans les logements est liée à la latitude et/ou à la longitude. Sur la base de la variation des résultats selon les espèces, les auteurs concluent à l'absence de convergence des résultats pour les 36 espèces et déduisent que la localisation géographique des logements n'influence pas leur contamination par les moisissures. Or il semble que l'interprétation des résultats, malgré leur non convergence pour l'ensemble des espèces, est riche d'enseignements. *Aspergillus niger, Aureobasidium pullulans, Eurotium group, Penicillium brevicompactum, Penicillium corylophilum, Stachybotrys chartarum, Alternaria alternata, Aspergillus ustus, Cladosporium cladosporioides, Cladosporium herbarum, Penicillium chrysogenum* sont négativement corrélés avec la longitude et positivement liés à la latitude. En d'autres termes la présence de ces espèces est caractérisée par un gradient d'Est en Ouest, avec une présence plus importante dans les logements localisés dans l'Ouest du pays, et un gradient d'augmentation de leur présence du Sud au Nord. La situation inverse, c'est à dire une plus forte présence au Sud et à l'Est, est observée pour certaines espèces comme *Trichoderma viride*, *Wallemia sebi*, *Mucor group*. Cependant, l'étude n'a pas permis de mettre en évidence une structuration géographique claire des différents groupes d'espèces ou de l'index relatif de moisissure dans sa globalité. Ainsi la concentration des espèces fongiques, vu comme un système multi-espèces intégré, est répartie de façon hétérogène sur le continent américain, alors que certaines espèces présentent une distribution géographique sous forme de gradient.

Les résultats de Rocchi *et al.* (2015) vont dans le même sens que ceux de Vesper et son équipe, puisqu'ils indiquent des différences importantes entre les régions en ce qui concerne la contamination des logements par six espèces de moisissures. Ces chercheurs ont analysé la présence de certains micro-organismes (dont 6 espèces fongiques) dans 3193 logements répartis dans 21 régions françaises (hors Corse) par qPCR. Les résultats indiquent des fortes différences selon les espèces allant d'une contamination de 27 % des logements par *S. chartarum* à 88 % des logements contaminés par *A. alternata*. La distribution des micro-organismes varie aussi de manière significative selon les régions (p-value < 0.01) et les auteurs ont identifié six types de profils de logements en ce qui concerne la présence des micro-organismes analysés et qui ont des répartitions spatiales différentes. Pour prendre un exemple, le cluster regroupant les logements avec un profil de forte présence de micro-organismes domine dans les régions de l'ouest de la France, ce qui selon les auteurs (Rocchi, 2015) est cohérent avec l'incidence élevée notamment de problèmes respiratoires et des sifflements dans l'ouest, comme l'ont identifié Delmas *et al.* (2012).

Plusieurs hypothèses ont été évoquées dans la littérature pour expliquer cette variabilité spatiale des espèces fongiques et leurs associations. Il s'agit essentiellement du climat et des caractéristiques météorologiques (comme la température, les précipitations et l'humidité) qui peuvent avoir des influences au niveau local. Les résultats de l'enquête nationale logement de l'Insee en 2006 corroborent ces résultats (Lalande, 2010). Le risque de constater de l'humidité dans le logement augmente avec le nombre de jours de pluie en hiver, toutes choses égales par ailleurs. Les zones à climat océanique, caractérisées par de fortes précipitations, sont celles où les logements sont les plus fréquemment humides. Les logements en climat semi-continental sont

plus épargnés et les régions où les logements sont les moins humides sont les régions méditerranéennes au climat chaud et sec, ou montagneuses au taux d'humidité dans l'air plus faible du fait de l'altitude.

De plus, la température joue un rôle. Les logements des communes qui enregistrent un nombre significatif de jours avec des températures inférieures à - 5°C ont un risque multiplié par 1,2 d'avoir de la moisissure par rapport à ceux des communes souffrant peu du froid. La flore régionale, liée au climat, au type de sol et à l'agriculture, est une autre explication plausible des distributions observées. Enfin, les auteurs évoquent l'hypothèse de l'architecture des bâtiments et le type de chauffage pour expliquer les différences entre les régions.

Dans une seule étude identifiée dans le cadre de cette recherche bibliographique, l'exposition aux moisissures dans un lieu est comparée avec celle observée dans d'autres lieux. Warman *et al.* (2009) ont comparé l'exposition aux moisissures et aux nuisibles (rats, mites, cafards) de 265 enfants de Bronx avec 1507 enfants vivant dans sept autres quartiers défavorisés économiquement dans d'autres villes aux Etats-Unis[20]. Les résultats montrent que les enfants de Bronx sont globalement plus exposés aux moisissures visibles que les enfants des sept autres quartiers (48% versus 25%; p < .001). Par ailleurs, les enfants habitant le Bronx (un des comtés le plus pauvre des Etats-Unis) ont plus de risque d'être sensibles aux allergènes dans l'air de leur domicile que les enfants d'autres centre-ville (86% versus 58%; p < .001). Les participants de l'étude domiciliés dans le Bronx ont signalé des conditions de logement plus dégradées que les participants des autres quartiers, notamment la présence de cafards, souris, rats et l'utilisation d'un réchaud à gaz pour le chauffage (source d'émissions de dioxyde d'azote, un gaz irritant pour les voies respiratoires). Malgré une approche géographique, l'objectif de l'étude est davantage de mettre en évidence la situation très dégradée pour les enfants vivant dans le Bronx que d'expliquer les différences observées entre les centres-villes. Les résultats indiquent certes une variabilité géographique de l'exposition, mais elle est surtout liée aux disparités économiques, sociales et ethniques des lieux étudiés.

Un troisième ensemble d'études, aborde les disparités observées selon les lieux d'habitations. Un certain nombre d'études ont établi qu'il y a une différence significative de contamination des logements en fonction de l'environnement résidentiel en comparant des logements en milieu urbain, rural et périurbain (Moularat*,* 2011 ; Hulin*,* 2013 ; Flamant-Hulin*,* 2013) ou en comparant des logement sur des exploitations agricoles avec des logements en milieu rural non agricole (Schram-Bijkerk, 2005).

Quelques études suggèrent des différences entre les milieux urbains, ruraux et plus particulièrement agricoles. Si on regarde la présence des moisissures en France, l'analyse des données de l'OQAI indique que la répartition des logements avec moisissures selon le degré d'urbanisation diffère significativement (p<0.05) par rapport aux logements sans moisissures. En effet, les logements avec moisissures sont situés le plus souvent en zone rurale (46% vs 38%) ou périurbaine (44% vs 32%) qu'en zone urbaine (10% vs 30%).

Plusieurs analyses ont été effectuées par des chercheurs de l'équipe d'EPAR - INSERM[21], du CHU de Clermont Ferrand et du CSTB (Moularat*,* 2011 ; Hulin*,* 2013 ; Flamant-Hulin*,* 2013). L'objectif de ces travaux a notamment été une comparaison entre l'exposition et l'état de santé des occupants dans des logements localisés dans des environnements résidentiels différents. Les logements et les occupants étudiés proviennent de deux études françaises : pour les logements en milieu urbain, le Six Cities Study (la contribution française à l'étude internationale portant sur l'asthme et l'allergie chez l'enfant) et pour les logements en milieu rural, l'étude française FERMA study (Environmental Factors of Rural environment and Respiratory and Allergic Diseases). Dans

---

20 Springfield (MA), Tucson (AZ), Cleveland (OH), Phoenix (AZ), San Antonio (TX), Raleigh (NC), St. Louis (MI)

21 EPAR : Epidémiologie des maladies allergiques et respiratoires

cette seconde étude les logements sont généralement habités par des enfants en contact fréquent avec des animaux de la ferme. L'ICF, décrit dans le chapitre 3.2.3.5, a été utilisé pour caractériser la présence ou l'absence de contamination.

En France, Moularat *et al.* (2011) se sont intéressés à la différence de contamination des logements par les moisissures en comparant 47 logements localisés en milieu urbain à Clermont Ferrand et 47 localisés en milieux rural dans la région d'Auvergne. L'étude indique une contamination, évaluée par l'indice ICF et par une inspection visuelle, significativement plus importante dans les logements ruraux par rapport aux logements urbains (68% versus 49%; $p < 0.05$).

Hulin *et al.* (2013) ont évalué l'exposition aux moisissures et le lien entre l'exposition et les maladies respiratoires et allergiques chez l'adulte auprès de 897 individus vivant dans 431 logements en France. Un questionnaire auto-administré a permis de caractériser les affections respiratoires et allergiques (asthme et bronchite chronique) des habitants. Dans cette étude, sur l'ensemble de l'échantillon de logements, 27 % étaient localisés dans l'espace urbain, 38,2 % dans le périurbain et 34,9 % dans l'espace rural. L'étude indique une contamination d'un logement sur trois (35,3 %), mais à la différence des travaux précédents (Moularat et la. 2011) elle ne fait pas état d'une différence significative de contamination selon le type d'environnement extérieur des logements (urbain ou rural). En revanche, dans cette étude les individus habitant en zone rurale sont plus sujet à des problèmes respiratoires que ceux vivant dans des logements en milieu urbain et périurbain (pour l'asthme l'OR=2.95 ; CI_{95} [1.10 ; 7.95] et pour la bronchite chronique l'OR=3.35 ; $IC_{95\%}$[1.33 ; 8.48]).

Une troisième étude du même groupe d'auteurs confirme cette association plus forte entre santé et exposition pour des populations habitant en milieu rural (Flamant-Hulin*,* 2013). Cette étude cas-témoin a comparé le risque de développer de l'asthme, d'une part, parmi 20 enfants asthmatiques et 26 enfants non asthmatiques en milieu rural et, d'autre part, parmi 24 enfants asthmatiques et 25 enfants non asthmatiques en milieu urbain. Les résultats confirment une relation significative entre le risque de développer un asthme et la présence de moisissures dans le logement uniquement pour les enfants vivant en milieu rural (58% des enfants asthmatiques en milieu urbain sont exposé aux moisissures versus 88% en milieu rural; $p < 0.05$).

Deux hypothèses principales sont avancées par les auteurs pour expliquer ces différences de lien entre santé et présence de moisissures. La première est l'utilisation d'un index fongique global et non d'une mesure des concentrations ; une différence entre la concentration de moisissures, non évaluée, serait susceptible d'expliquer, du moins en partie, ces résultats. En effet, comme le soulignent les auteurs il y a une relation bien établie par de nombreux travaux entre santé respiratoire et exposition aux moisissures ou à l'humidité (décrites dans le chapitre 4). Une deuxième hypothèse est la sensibilité de la population rurale à développer des symptômes respiratoires en raison d'une exposition excessive à divers bio-contaminants, incluant les moisissures. Pour confirmer cette hypothèse les auteurs évoquent une étude de 2010 (Hulin, 2010) qui a mis en évidence un risque sanitaire liée à l'exposition aux moisissures et au formaldéhyde plus élevée en population rurale.

Selon Schram-Bijkerk *et al.* (2005), des études antérieures ont suggéré que le fait de grandir sur une exploitation agricole est associé à une plus faible prévalence de maladies allergiques dans l'enfance (Braun-Fahrlander*,* 2002 ; Eduard*,* 2004). Suite à ce constat des hypothèses ont été testées pour comprendre cet effet « protecteur » par Schram-Bijkerk *et al.* (2005). Ces auteurs ont évalué les niveaux et les déterminants de l'endotoxine bactérienne, (1-3)-β-D-glucanes et Polysaccharides extracellulaires (EPS) dans la poussière des logements des 229 enfants vivant à la ferme et des 60 enfants de référence vivant en dehors d'une exploitation agricole (en milieu rural toujours), dans 5 pays européens (Autriche, Allemagne, Pays-Bas, Suède, et la Suisse). Le même nombre d'enfants a été étudié dans chaque pays. Les prélèvements de poussières indiquent que les niveaux d'endotoxines, d'EPS et de glucanes (par gramme de poussières prélevées) étaient 1,2 à 3,2 fois plus élevés dans les maisons de ferme que dans les maisons de référence. Ces différences ont été systématiquement démontrées dans tous les pays étudiés, même si les concentrations moyennes ont varié considérablement. Les auteurs suggèrent que les niveaux

d'agents microbiens, en particulier les composants fongiques, dans la poussière de maison peuvent offrir une certaine protection contre des affections respiratoires ce qui expliquerait la plus faible prévalence d'asthme de ces enfants ayant grandi dans des fermes.

En France métropolitaine le taux de ménage en précarité énergétique varie d'une région à l'autre. Si la raison principale de ces écarts est liée au climat, il convient de considérer aussi les écarts de revenus et l'état du parc de logements. Cochez *et al.* (2015) observent que dans trois régions la précarité énergétique dépasse 25% des ménages du département. Il s'agit de la Franche-Comté, l'Auvergne et la Lorraine ; à l'inverse les 3 régions les moins concernées sont la Corse, Provence-Alpes-Côte d'Azur et l'Île-de-France.

Enfin, il convient de souligner les différences géographiques des conditions de développement de moisissures lié au risque d'inondation ou de submersion des logements. De nombreuses études ayant été réalisées à la suite d'innondations ont eu pour objectif de mesurer l'impact de ces dernières sur l'état de santé et la qualité de vie des populations sinistrées, et de déterminer les effets de l'inondation sur le développement de moisissures dans les logements, particulièrement important en raison de dégâts des eaux. Il reste difficile d'isoler l'impact des moisissures indépendemment du fait d'avoir vécu une innondation. En France, l'inondation de la Somme en 2001 a fait l'objet d'une étude sur le développement de moisissures et les effets sanitaires de la catastrophe (Trugeon, 2006). Les auteurs de cette étude soulignent que les inondations impactent la vie sociale et les comportements des enfants. Les auteurs indiquent que l'état de santé général peut être affecté ainsi que la santé mentale (état de stress). Le niveau d'exposition joue un rôle essentiel sur le niveau des pathologies. Aux Etats-Unis, des études ont été conduites notamment sur le développement de moisissures dans les logements à La Nouvelle Orléans post-Katrina (par exemple, Rao, 2007, Faye Grimsley, 2012, Cummings, 2008). Rao *et al.* (2007) indiquent une predominance de certaines espèces, à savoir *Aspergillus niger*, *Penicillium* spp., *Trichoderma*, et *Paecilomyces*. Les niveaux de contamination de ces espèces mesurés dans les logements affectés par les ouragans Katrina et Rita étaient élévées. Il est à noter que les espèces et les concentrations étaient différentes des précèdentes études réalisées pour des bâtiments du Sud-Est des Etats-Unis non concernés par un dégat des.

La géographie du risque lié à l'inondation et à la submersion est amenée à évoluer avec la modification du climat. Les changements concerneront à la fois les zones impactées et l'ampleur et la fréquence du phénomène. L'impact potentiel du changement climatique sur les conditions de dégâts des eaux favorisant le développement des moisissures ne sera pas développé dans ce rapport, faute de scénarios permettant de déterminer avec précision les régions les plus impactés par les inondations ou submersions et à quel degré.

5.3 Populations à risque du fait d'une surexposition

5.3.1 Caractéristique des ménages potentiellement exposés aux contaminations fongiques

D'après l'analyse des données de l'OQAI décrite dans le chapitre 2.4, en lien avec les typologies particulières de logements, de ménages ou d'habitudes de vie, la présence de moisissures est reliée aux habitudes de vie mettant en avant en particulier la fréquence d'activités d'entretien dans le logement, la présence d'animaux domestiques ou encore la présence de fumeurs. A l'inverse, des caractéristiques semblent en particulier associées à l'absence de moisissures. Il s'agit de personnes retraitées vivant principalement dans des maisons individuelles avec jardin et qui ont moins d'activités d'entretien dans leur logement. Ces premiers éléments d'analyse semblent indiquer que certaines habitudes de vie et la composition du ménage et ses ressources sont des facteurs associés à la présence de moisissures dans les logements. Mais cette observation peut être le fruit d'un biais lié à un nombre plus important de modalités dans les typologies d'habitudes ou de ménages par rapport à la typologie de logements.

Les contributions relatives aux différentes variables restent encore difficiles à établir. De même, toute relation causale ne saurait être avancée tant il est difficile de dire par exemple si une habitude particulière tient son origine dans le fait de vivre dans un environnement spécifique ou si au contraire elle est inscrite dans le mode de vie des occupants quel que soit leur environnement.

Statut socioéconomique

Le statut socioéconomique désigne la position qu'occupe une personne dans la société. Ce statut ne peut être directement mesuré, mais il existe un certain nombre d'indicateurs possibles. Le statut socio-économique peut s'exprimer, par exemple, en termes de revenu, de niveau de scolarité, de type de travail, de capitaux acquis, de la valeur du logement de la personne.

D'après l'analyse des données françaises de la campagne nationale Logement de l'OQAI décrite dans le chapitre 2.4, les logements avec moisissures abritent plus souvent des personnes inactives ou restant au foyer sans ressource particulière (42% contre 21%), des personnes au chômage ou touchant le revenu minimum d'insertion (RMI) (31% contre 9%). Par contre, on compte moins souvent dans ces logements avec moisissures des personnes à la retraite ou en préretraite (13% contre 30%).

Les ressources principales diffèrent statistiquement en considérant les logements avec moisissures. En effet, elles proviennent pour une part non négligeable du chômage ou RMI (19% contre 2%), mais par contre beaucoup moins de pensions de retraites (10% contre 25%). De même, les revenus mensuels du ménage restent inférieurs à 1100 euros dans 31% des cas (contre 11%). A l'opposé, moins de 8% des ménages vivant dans des logements avec moisissures gagnent plus de 3200 euros par mois (contre 20% dans les autres logements). Les ménages aux ressources les plus faibles sont donc plus souvent dans des logements dégradés.

Dans l'enquête Logement 2006 analysée par Lalande (2010), les ménages aux revenus les plus faibles sont les plus concernés par l'humidité dans leur logement. Ainsi, 28% des ménages percevant les 10% de revenus les plus faibles vivent dans un logement humide contre 12% de ceux percevant les 10% des revenus les plus élevés.

En 2007, selon l'analyse de l'enquête Logement 2006 de Babès *et al.* (2011), 24% des chômeurs vivent dans une habitation avec un toit percé ou un problème d'humidité ou des moisissures sur les montants des fenêtres ou des portes. Au total, 44% des chômeurs, 43% des personnes appartenant aux catégories pauvres et 39% des étudiants vivent dans une habitation qui présente au moins un défaut majeur de qualité.

D'après le recensement analysé par Cochez *et al.* (2015) les ouvriers constituent la catégorie la plus nombreuse à être en précarité énergétique avec 1,2 millions de ménages, soit 26,8% de cette catégorie. Cependant le risque est le plus élevé chez les agriculteurs (46,6%) et chez les chômeurs et inactifs (44,2%).

Statut d'occupation

D'après l'analyse des données françaises de la campagne nationale Logement de l'OQAI décrite dans le chapitre 2.4, les occupants des logements avec la présence de moisissures sont le plus souvent des locataires (56% contre 35%) en particulier d'un office HLM (27% contre 10%). Ces logements comptent également une proportion plus importante de familles monoparentales par rapport aux autres (17% contre 7%).

Selon l'Insee, le statut d'occupation définit les situations juridiques des ménages concernant l'occupation de leur résidence principale. Quatre statuts principaux sont distingués :

- le statut de **propriétaire** s'applique aux ménages propriétaires, copropriétaires et accédant à la propriété,
- le statut de **locataire**, **sous-locataire** s'applique aux ménages acquittant un loyer quel que soit le type de logement qu'ils occupent,

- le statut de **logé gratuitement** s'applique aux ménages qui ne sont pas propriétaires de leur logement et qui ne paient pas de loyer.

D'après Arnault *et al.* (2015) dans l'étude Logement 2013, ce sont les locataires qui sont le plus fréquemment confrontés à une dégradation de leur habitat. Ainsi, alors que 60% des propriétaires occupants ne déclarent aucun problème dans leur logement, seulement 40% des locataires peuvent affirmer la même chose.

Les locataires du parc privé sont plus fréquemment exposés à des conditions de logement dégradé, et en particulier à la présence d'humidité et de moisissures. Cependant, le parc social et en particulier le plus ancien est aussi concerné, en fonction de ses caractéristiques techniques.

Pour Lalande (2010), dans l'étude Logement 2006, ce sont aussi les locataires qui se plaignent le plus d'humidité dans leur logement. Ainsi, 28% des locataires du parc privé et 26% des locataires du parc social, contre 15% des propriétaires vivent dans un logement humide. Les propriétaires accédants bénéficiant d'un prêt aidé, qui vivent plus fréquemment dans des logements postérieurs à 1999, sont les moins concernés par l'humidité dans leur logement.

Par contre, l'analyse des données de l'enquête Logement 2013 indique que ce sont toujours les locataires du parc social qui sont le plus fréquemment en situation de suroccupation.

Tableau 20 : Ménages en situation de surpeuplement, selon le type d'habitat, l'âge de la personne de référence et le statut d'occupation (en %) (Insee, Enquête Logement 2013)

	1984	1996	2001	2006	2013
Propriétaires non accédants	7,9	3,2	2,3	2,0	1,9
Accédants	11,0	7,6	7,1	5,5	4,8
Locataires du secteur social	23,9	20,8	20,0	15,3	16,7
Locataires du secteur libre	23,5	17,2	15,3	14,9	15,0
Autres statuts*	25,1	17,2	17,6	18,1	23,3
Ensemble	**16,5**	**11,0**	**9,8**	**8,4**	**8,5**

* Notamment : meublés, sous-locataires, occupants logés gratuitement.

Champ : France métropolitaine, résidences principales, hors ménages dont la personne de référence est étudiante.

Age

La population générale passe de 70 à 90 % de son temps dans les environnements intérieurs (dans des logements, au lieu de travail ou dans des locaux destinés à recevoir le public, etc), où des expositions à divers polluants, incluant les moisissures, ont lieu, principalement par inhalation. Certains sous-groupe de populations comme les jeunes enfants et les personnes âgées, passent encore plus de temps dans les environnements intérieurs et sont de ce fait, surexposées aux contaminants fongiques potentiels (Zeghnoun, 2010). C'est aussi souvent le cas des personnes à mobilité réduite du fait d'un handicap.

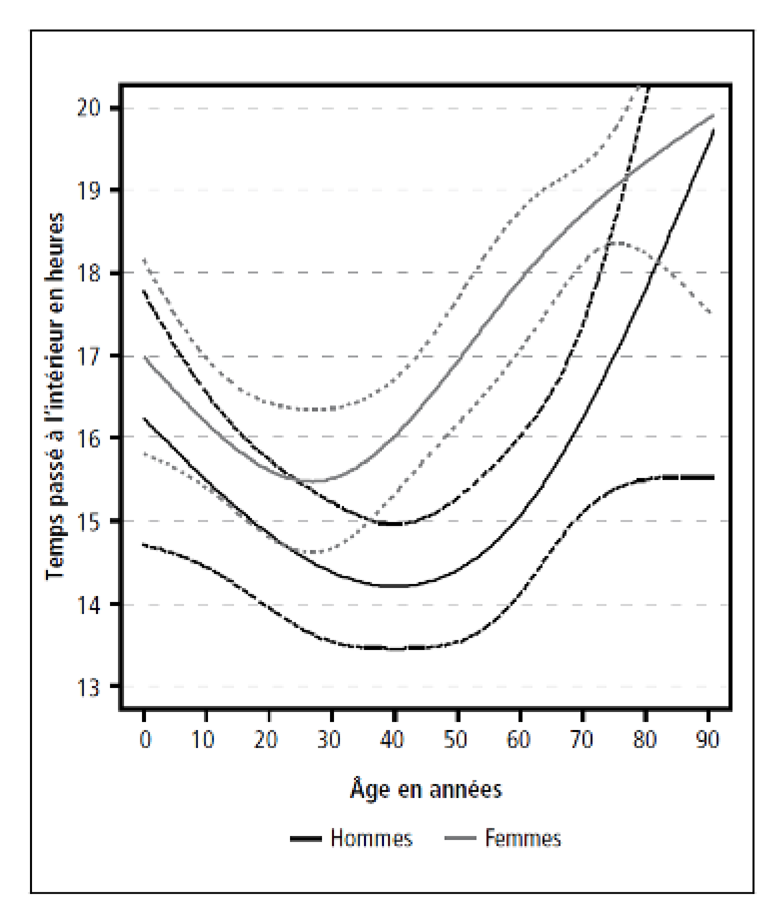


Figure 18 : Temps en heures quotidien passé à l'intérieur du logement (moyenne sur la semaine) en fonction du sexe et de l'âge (Zeghnoun, 2010)

D'après les données Insee de l'enquête nationale logement, ce sont les ménages les plus jeunes qui résident le plus fréquemment à la fois dans un habitat humide ; un habitat surocuppé ou sont en situation de précarité énergétique.

D'après l'étude Logement 2006 analysée par Lalande (2010), alors que 15,6% des plus de 65 ans signalent de l'humidité, 27,1% des 18-30 ans sont concernés.

Ce sont aussi les ménages les plus jeunes qui sont les plus touchés par la précarité énergétique. Cochez *et al.* (2015) analysent les données du recensement général de la population pour étudier la vulnérabilité énergétique des ménages français. Les ménages dont la personne de référence à moins de 30 ans sont, pour 43,1% d'entre eux, en vulnérabilité énergétique. Cependant c'est la catégorie des personnes âgées qui est la plus nombreuse avec 1,8 million de ménages exposées, soit 21,1% des ménages retraités. Avec un taux de 16,9 % des ménages vulnérables, les plus de 75 ans paraissent moins à risque que l'ensemble des retraités, probablement car ils occupent des logements plus petits et donc plus faciles à chauffer.

Statut marital

Les ménages les plus touchés du fait de l'occupation d'un logement humide sont les familles monoparentales. Ainsi Lalande (2010) montre qu'en 2006 le risque pour une famille monoparentale d'avoir de l'humidité dans son logement est 1,2 fois plus élevé que pour une personne seule. Ce sont 31,6% des familles monoparentales qui étaient ainsi concernées en 2006. De plus, la part des logements présentant des signes d'humidité augmente significativement avec le nombre d'enfants du ménage. En 2006, plus de 25% des enfants étaient ainsi exposés à l'humidité, quand 20% des logements l'étaient.

Chardon *et al.* (2008) indiquent que s'il semble évident que les ménages les plus à risque de suroccupation sont les familles avec enfants et même avec de nombreux enfants, il apparait néanmoins que parmi elles, les familles monoparentales sont plus à risques.

Tableau 21 : Ménages en situation de suroccupation (Source : Insee, enquêtes annuelles de recensement de 2004 à 2007)

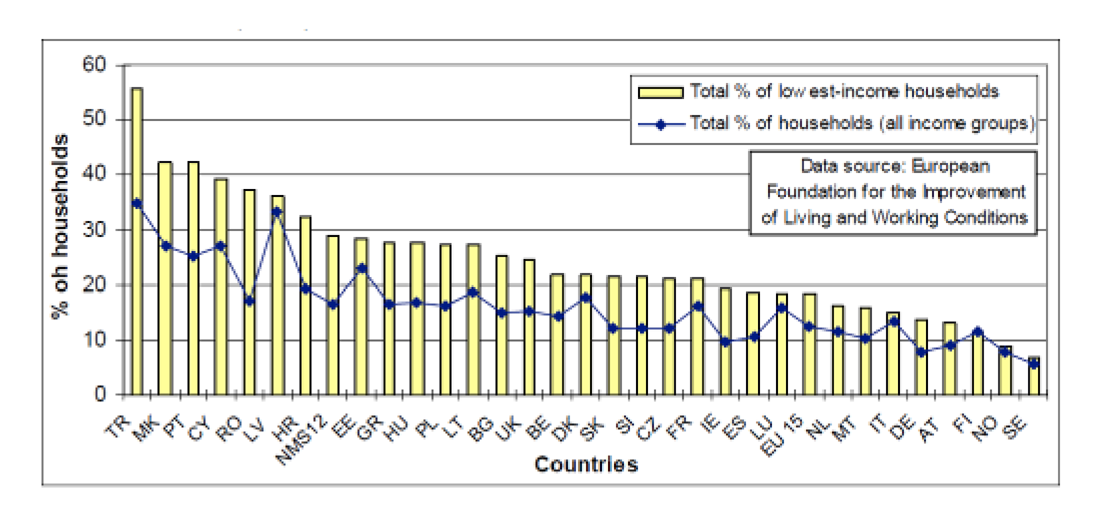
	Familles monoparentales		Couples avec enfants
	Mères	Pères	
Nombre de familles (en milliers)	**1 486**	**272**	**7 014**
Taux de surpeuplement (en %)	20	18	8
Part des familles vivant dans un logement où :			
- il manque une pièce (en %)	15	13	6
- il manque deux pièces (en%)	5	5	2

Champ : France métropolitaine, ménages ordinaires, familles avec enfants de 0 à 24 ans en années révolues.

Concernant les logements en précarité énergétique, Cochez *et al.* (2015) soulignent que ce sont les personnes seules qui apparaissent les plus exposées. Ainsi, environs un tiers d'entre elles sont en situation de vulnérabilité énergétique, contre 16% des ménages composés d'au moins 2 personnes.

5.3.2 Population concernée : un lien fort entre inégalités sociales de santé et mauvaises conditions de logement

Des études indiquent que les conditions de logement sont un des mécanismes par lesquels les inégalités sociales peuvent se traduire par des inégalités de santé. Les inégalités de santé sont souvent le résultat d'un ensemble de problèmes liés au logement, y compris la présence de moisissures, qui eux-mêmes sont très souvent le résultat d'une situation précaire des familles. Dans une revue bibliographique, portant sur l'Europe, Braubach & Fairburn (2010) évaluent et synthétisent les preuves actuelles des liens existants entre inégalités sociales et environnementales en relation avec le logement. À quelques exceptions près, toutes les études analysées par ces auteurs ont identifié la population la moins aisée comme le groupe le plus exposé aux risques environnementaux dans leur lieu de résidence. Les conditions de logement, tels que par exemple le manque de confort thermique, l'humidité et la moisissure et la pollution de l'air intérieur, ont tous un impact sur la santé et le degré d'exposition varient très clairement entre les groupes sociaux. Les résultats de l'enquête LARES confirment ces conclusions. Dans l'Union Européenne (UE) des 15, 18% des ménages situés dans le quartile inférieur des revenus ont des logements avec humidité ou des fuites d'eau (sources de moisissures), comparé à seulement 9 % des logements situés dans le quartile des ménages ayant le revenu le plus élevé. A l'exception des trois pays nordiques Suède, Norvège et Finlande, les ménages pauvres sont plus exposés à l'humidité dans tous les pays de l'UE (Figure 19).



Note: lowest income is defined as bottom 25% of the population by income

Figure 19 : Les ménages ayant un problème d'humidité ou de fuites dans les murs ou dans le toit dans leur logement (2007) (Source : Braubach & Fairburn, 2010)

En partant de la base de données européenne LARES, Braubach & Savelsberg (2009) étudient pour l'OMS-Europe les inégalités sociales de santé sur 8 519 individus qui composent 3 373 ménages et qui habitent dans huit villes européennes. Plusieurs expositions sont analysées, et parmi celles qui apparaissent avoir un lien significatif avec les inégalités sociales et de santé des individus et des familles, l'exposition aux moisissures et à l'humidité (évaluée par auto-déclaration de présence de moisissures ou d'humidité visibles) apparait un facteur déterminant. L'étude révèle de nettes inégalités d'exposition aux moisissures et à l'humidité, en fonction du niveau de revenu des ménages, puisque cette exposition apparaît trois fois plus souvent dans les ménages avec le plus faible revenu (premier sextile) que dans les ménages avec le revenu le plus élevé (dernier sextile). La comparaison de ménages ayant des difficultés de payer les loyers avec ceux qui n'ont pas de difficultés, indique systématiquement que les ménages en difficulté sont plus exposés aux mauvaises conditions de logement et ont une plus mauvaise santé que les autres. Les analyses mettent également en évidence que les groupes à faible revenu sont davantage exposés aux multiples facteurs de risque (17 % des ménages à faible revenu sont exposés à 2 ou 3 facteurs de risque) que les groupes à revenu plus élevé (seulement 6 % déclare une exposition multiple).

Braubach & Savelsberg (2009) comparent aussi deux strates de populations ayant une exposition similaire, dont une dans une situation économique précaire et l'autre sans précarité économique. Les ménages avec des difficultés économiques ont davantage de problèmes de santé dont certains sont, selon les auteurs, vraisemblablement dus à l'exposition environnementale liée aux conditions de logement. Les auteurs concluent de ce fait qu'il s'agit de populations plus vulnérables.

Au regard de l'ensemble des déterminants analysés par ces auteurs (Braubach & Savelsberg, 2009), l'humidité et les moisissures sont associées de manière particulièrement forte aux caractéristiques socio-économiques des ménages. Les relations sont significatives entre la présence d'humidité et de moisissures dans les logements d'un côté et un éventail de caractéristiques socio-économiques des ménages de l'autre côté. Il s'agit en particulier du niveau de revenu, du statut d'emploi (en activité ou non), des difficultés de payer le loyer et des familles monoparentales.

D'autres études confirment ces résultats. Reponen *et al.* (2013) ont réalisé une étude sur les logements d'enfants nés aux USA dans un des états : Ohio ou Kentucky du Nord entre 2001 et 2003 (CCAAPS). L'objectif était d'identifier les caractéristiques des familles et des logements qui étaient associés avec un indice ERMI plus élevé (décrit plus en détail dans la partie 3.2.3.3). Les facteurs pour lesquels une association avec un indice ERMI élevé a été identifiée sont notamment un faible revenu de la famille (< 20 000 dollar par an) et l'origine afro-américaine des familles.

Dans un rapport de 2003 la British Medical Association (BMA, 2003) met en évidence le fait que les individus les plus exposés à un logement dégradé comptent parmi les groupes de population les plus vulnérables : les ménages de bas niveau socio-économique, les personnes ayant une maladie de longue durée, les personnes sans travail ; ce sont en outre des groupes de populations qui ont tendance à passer beaucoup de temps dans leurs logements.

La majorité des études qui s'intéressent à l'exposition aux moisissures dans les logements ont une approche multi-exposition, étant donné les associations élevées entre différentes expositions. Dans les logements des familles ayant un faible revenu sont souvent constatées des concentrations plus élevées de différents contaminants, puisque la précarité les amène à vivre dans des logements plus détériorés que les familles ayant un revenu plus élevé.

Braubach & Savelsberg (2009) identifient parmi les individus ayant déclaré avoir un problème de santé, un gradient social très significatif dans les problèmes multiples liés au logement (moisissures, humidité, sur-occupation du logement, mauvaise qualité de l'air liés au logement) en fonction des niveaux de revenus (Figure 20).

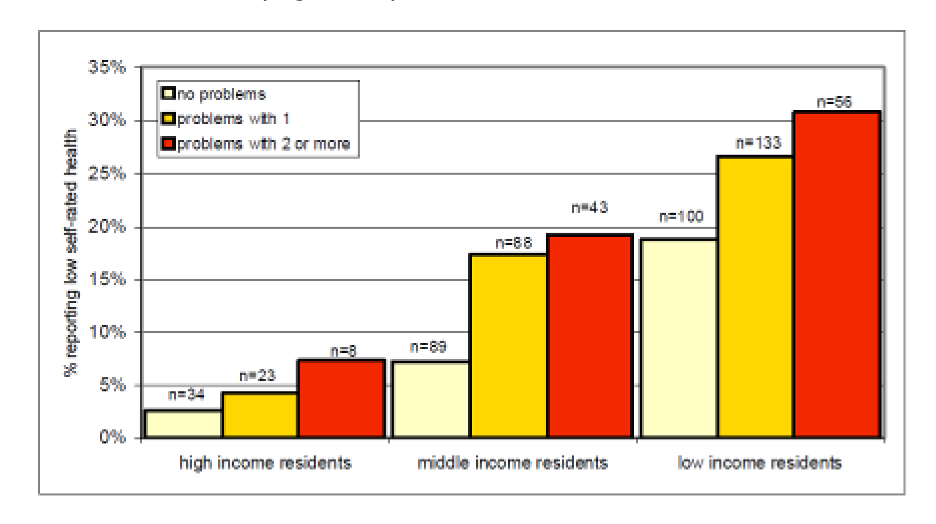


Figure 20 : Problèmes de logement auto-déclarés (moisissure, mauvaise qualité de l'air ou froid en hiver) par groupe de revenu (Source : Braubach & Savelsberg, 2009)

5.4 Populations à risque du fait d'une sensibilité individuelle

5.4.1 Sensibilité liée à l'âge et/ou au sexe

5.4.1.1 Nourrissons et enfants

Les nourrissons et les enfants présentent une sensibilité individuelle plus importante que les adultes vis-à-vis de certains risques environnementaux de par leur taille, leur physiologie ainsi que l'immaturité de leurs organes. De plus, certains comportements propres à leur âge (mettre la main à la bouche, ramper sur le sol…) sont susceptibles d'augmenter le risque au sein de cette population (Santé Canada, 2011).

Selon l'INSPQ (2002), les nourrissons et les jeunes enfants sont plus susceptibles que les adultes de développer des problèmes de santé lorsqu'ils sont exposés à des contaminants fongiques, d'une part parce que leur système immunitaire n'est pas complètement développé et d'autre part parce que leur taux de ventilation par unité de masse corporelle est élevé. Par ailleurs, le fait que leurs poumons soient encore en croissance pourrait rendre les enfants plus susceptibles vis-à-vis des effets des mycotoxines liés à l'inhalation de mycotoxines.

Dans un rapport du Ministère de l'Education, du Loisir et du Sport du Québec relatif à la qualité de l'air dans les établissements scolaires (Ministère de l'Éducation, du Loisir et du Sport, 2014), il est

souligné que les enfants risquent davantage que les adultes d'éprouver des problèmes de santé liés à la mauvaise qualité de l'air intérieur, précisant que les moisissures font partie des contaminants présentant les risques les plus sévères pour la santé des occupants. Le fait que le volume de leurs poumons, proportionnellement à leur poids et à leur taille, soit plus important que celui des poumons d'un adulte implique que l'organisme des enfants absorbe une grande quantité de contaminants. A cela s'ajoute le fait que leurs activités physiques sont habituellement plus intenses que celles des adultes, entrainant des échanges respiratoires plus grands.

Dans sa revue, l'IOM (2004) a conclu que le niveau de preuves d'une association entre l'exposition aux moisissures dans les environnements intérieurs et les maladies respiratoires des voies inférieures chez les enfants en bonne santé était limité (cf. 4.2). D'autres études plus récentes ont suggéré l'existence d'un lien potentiel entre l'exposition précoce aux moisissures et le développement de l'asthme chez certains enfants, notamment chez les enfants génétiquement prédisposés à développer un l'asthme (CDC, 2014).

5.4.1.2 Personnes agées

Selon l'INSPQ (2002), les personnes âgées constitueraient un groupe plus susceptible de développer des problèmes de santé suite à une exposition à des contaminants fongiques. Compte tenu du fonctionnement réduit de leur mécanisme physiologique de défense, les personnes âgées sont plus sensibles aux infections respiratoires. Par ailleurs, une augmentation de la prévalence des pathologies respiratoires chroniques est observée dans ce groupe d'âge.

5.4.1.3 Sexe

Selon Zeghnoun *et al.* (2010), les Français passent en moyenne par semaine 67 % de leur temps journalier (soit 16h10 min) à l'intérieur du logement (habitation principale) ; le temps passé dans les autres environnements intérieurs n'a pas été pris en compte dans cette estimation. Il existe des variations significatives selon le sexe, l'âge et l'activité professionnelle des occupants du logement. Ainsi, ce temps est estimé à 71 % chez les femmes et 63 % chez les hommes. De par une durée de séjour plus importante que les hommes à l'intérieur du logement, les femmes seraient donc surexposées aux contaminants chimiques et biologiques présents dans les logements et pourraient constituer un groupe plus à risque que les hommes de développer les effets sanitaires associés.

Les travaux sur les inégalités d'exposition liées au genre en matière de logement et de lieu de résidence sont très rares. Braubach & Savelsberg (2009) emettent l'hypothèse que le faible intérêt porté à la question serait dû au fait que les conditions de logement (infrastructures,…) ont tendance à être les mêmes pour hommes et femmes. Une enquête nationale suédoise (*Socialstyrelsen och Karolinska Institutet*, 2009) portant sur 26 000 personnes, montre qu'en Suède il n'y a pas de différences significatives entre les femmes et les hommes en ce qui concerne leur exposition à des facteurs environnementaux (moisissures, environnement intérieur humide, bruit et pollution de l'air). Ces travaux, du fait de leur faible nombre et des limites méthodologiques ne permettent pas de conclure sur l'impact du genre dans le développement ou l'exacerbation d'une pathologie en lien avec une exposition fongique.

5.4.2 Hypersensibilité immunologique

5.4.2.1 Hypersensibilité de type I : atopie

L'atopie est une prédisposition génétique personnelle ou familiale à réagir de façon excessive *via* la production d'IgE, en réponse à une exposition à de faibles quantités d'antigènes communs de l'environnement, et à développer des symptômes typiques décrits comme la triade atopique tels que l'asthme atopique, la rhinoconjonctivite et le rhume des foins en particulier ou l'eczéma atopique.

Pour déterminer qu'un individu est atopique, la preuve immunologique est indispensable : réaction positive aux tests cutanés (prick-tests) ou taux élevés d'IgE sériques spécifiques.

La présence d'un terrain atopique chez un sujet constitue un facteur de risque de développement d'une maladie atopique.

Les individus atopiques sont donc génétiquement capables de produire une réaction allergique. Ils peuvent développer des symptômes d'allergie lorsque leur système respiratoire ou leur peau sont exposés à des allergènes.

La sensibilisation atopique aux moisissures (*Alternaria, Cladosporium*) est peu fréquente en Europe, dans la population générale (étude ISAAC et ECRHS), mais varie selon les pays (ECRHS). Elle est plus fréquente aux Etats-Unis (NHANES) et est maximale chez l'adolescent et le jeune adulte. Une proportion significative des sujets asthmatiques présente des sensibilités sous-jacentes aux allergènes fongiques ; la sensibilisation à une seule espèce fongique est rare (Gergen, 1992 ; D'Amato, 1997 ; Janson, 2001).

5.4.2.2 Hypersensibilité de type III et IV : pneumopathies d'hypersensibilité

Les pneumopathies d'hypersensibilité (PHS) d'origine domestique sont des pneumopathies immuno-allergiques à médiation humorale et cellulaire dues à l'exposition chronique d'antigènes principalement d'origine fongique (moisissures) et bactérienne (mycobacteries non tuberculeuses). Elles surviennent chez des sujets hypersensibles (Dalphin, 2009).

Elles ne sont pas exceptionnelles, mais peu d'éléments épidémiologiques ont été rapportés (Dalphin, 2012). L'incidence serait de 1/100 000 habitants en Angleterre (en incluant les PHS d'origine bactérienne et celles dues aux antigènes aviaires) (Caillaud, 2012) et les PHS d'origine fongique d'étiologie fongique représenterait 10% des cas aux Etats-Unis (Hanak, 2007).

Les spores ou les fragments mycéliens, agents étiologiques des PHS, doivent avoir un diamètre inférieur de 4 à 5µm pour pouvoir atteindre les alvéoles pulmonaires. Des contacts répétés sont suffisants pour induire une sensibilisation et aucune croissance de la moisissure dans les tissus n'est nécessaire. Néanmoins le développement des PHS ne semble survenir que lorsque les concentrations en moisissures sont au moins de 10^3 spores.m^{-3} (Eduard, 1997). Les sources antigéniques sont, soit les contaminations des murs ou de l'air des logements, soit des appareils contaminés comme les humidificateurs (Caillaud, 2012). Lors des premières manifestations de la maladie, l'éviction du patient pendant quelques jours de la source antigénique peut suffire pour faire cesser les symptômes.

Trois formes cliniques sont classiquement décrites :

- La forme aiguë se caractérise par un syndrome pseudo-grippal associant toux sèche, dyspnée et fièvre d'apparition brutale, semi-retardée (4 à 8 heures après le contact antigénique). Des céphalées, des arthralgies et des myalgies, peuvent également être présentes. Les râles crépitants sont le plus souvent présents. Les symptômes disparaissent généralement en quelques jours. Toutefois si l'exposition persiste, les épisodes récidivent, sans phénomène de tolérance, et ont tendance à s'accentuer et s'accompagnent rapidement d'une altération de l'état général.
- Dans la forme subaiguë, la dyspnée est d'aggravation progressive avec une altération de l'état général (asthénie, anorexie, amaigrissement). Une toux, parfois associée à une fièvre est notée. L'évolution peut conduire à un tableau d'insuffisance respiratoire grave.
- La forme chronique traduit l'évolution vers une insuffisance respiratoire chronique par fibrose interstitielle diffuse ou par broncho-pneumopathie chronique obstructive. La symptomatologie est beaucoup plus atypique (toux, dyspnée, expectoration, sifflements…). Ces formes chroniques peuvent survenir sans antécédent de forme aiguë ou subaiguë (Dalphin, 2009).

Le diagnostic est basé sur des critères cliniques, radiologiques, fonctionnels, cytologiques tel que le lavage broncho-alvéolaire (Caillaud, 2012 ; Dalphin, 2012), histologiques et biologiques. La mise en évidence d'une exposition antigénique importante est essentielle (Dalphin, 2009). Elle doit être confirmée par des analyses microbiologiques de l'environnement, l'objectivation d'une contamination importante du domicile rapportée par un conseiller en environnement intérieur (CEI) et/ou par la détection de précipitines spécifiques des moisissures par des tests sérologiques (Tiotiu, 2013). L'éviction temporaire du logement induisant une amélioration des symptômes est un élément important du diagnostic. Le traitement des PHS repose sur l'éviction ou la réduction de l'exposition et la corticothérapie (Dalphin, 2009).

5.4.3 Sensibilité liée à des pathologies préexistantes

Selon la littérature, les sujets atopiques ou souffrant de maladies atopiques comme l'asthme ainsi que les individus atteints de bronchopneumopathie chronique obstructive sont plus susceptibles de développer des effets sanitaires en lien avec une exposition aux moisissures (INSPQ, 2002 ; Eduard, 2009). Ces personnes réagissent généralement à des niveaux d'exposition inférieurs à ceux des personnes non atteintes d'une de ces maladies. Les infections fongiques peuvent être mortelles chez les patients cancéreux immunodéprimés en cours de traitement (Richardson, 2005 cité par Eduard, 2009).

5.4.3.1 Asthme

L'asthme est une maladie respiratoire chronique fréquente chez l'enfant souvent associée à de l'allergie. C'est une maladie d'expression variable au cours du temps. Elle peut évoluer, disparaître ou apparaître à certains moments de la vie. La maladie se manifeste par des crises caractérisées par une difficulté à respirer (dyspnée) et des sifflements. La fréquence des crises et leur intensité varient suivant les personnes. C'est une maladie complexe, multifactorielle et hétérogène (Wenzel, 2012). Les causes de l'asthme ne sont pas toutes bien connues mais les facteurs génétiques et l'environnement jouent un rôle dans l'apparition et/ou l'aggravation de la maladie (Beasley, 2015).

Chez l'enfant, l'expertise a mis en évidence des arguments forts suggérant la causalité pour l'exacerbation de l'asthme. Les études épidémiologiques (notamment les études de panel) indiquent que l'exposition aux moisissures aggrave les symptômes d'asthme chez l'enfant, notamment suite à une exposition aux spores fongiques dont *Penicillium* (5 études de panel, 1 méta-analyse et 2 revues systématiques).

5.4.3.2 Bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO)

La bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) est une pathologie respiratoire chronique caractérisée par une obstruction bronchique irréversible associée à une réponse inflammatoire, dont le principal facteur de risque est le tabagisme (Rabe, 2007). Selon la *Global Burden of Disease Study*, elle sera la troisième cause de mortalité dans le monde en 2020 (Murray, 1997). Le rôle des bactéries et des virus respiratoires dans l'augmentation de l'inflammation bronchique et systémique au cours d'une exacerbation est bien documenté, ces micro-organismes étant considérés comme agents étiologiques dans 50% et 39,3% des cas, respectivement (Domenech, 2013). Des infections aspergillaires invasives ont été également identifiées chez 1,6 à 3,9% des patients en réanimation, avec une mortalité associée élevée (72 à 100%), mais cette incidence est probablement sous-estimée (Guinea, 2010; Xu, 2012). Par ailleurs, l'isolement d'*Aspergillus fumigatus* dans des échantillons respiratoires est fréquent chez les patients en réanimation atteints de BPCO, atteignant 49 à 87% (Bafadhel, 2014; Khasawneh, 2006), mais les données concernant sa signification sont limitées. Enfin, des cas d'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) développés dans un contexte de BPCO ont été récemment rapportés (Agawal, 2008).

Le rôle de l'exposition domestique aux moisissures dans l'obstruction bronchique a été exploré dans une étude transversale incluant 9 patients atteints d'asthme ou de BPCO et indique une association entre des concentrations élevées d'ADN fongique (mesurées par qPCR panfongique à partir de prélèvements de poussières) et une capacité vitale forcée (CVF) ou un Volume

expiratoire maximum seconde (VEMS) faible. Une association potentielle semble également exister entre les charges fongiques mesurées par des qPCR spécifiques ciblant notamment *Alternaria, Penicillium, Aspergillus, Cladosporium* et les mesures de la fonction respiratoire, mais le très faible effectif limite la portée de ces conclusions (Schendell, 2012). L'impact de l'exposition aux moisissures (mesurée par questionnaire) sur l'obstruction bronchique a été confirmée par une étude de cohorte longitudinale ciblant des patients asthmatiques non fumeurs (n=68), qui indique que la présence de moisissures visibles est un facteur de risque indépendant d'obstruction persistante des voies aériennes (Ciebiada, 2014). Par ailleurs, une étude transversale portant sur des sujets sains (n=269), met en évidence une diminution du VEMS et de la CVF en cas d'odeur de moisi au domicile (Hernberg, 2014).

Au total, très peu d'études ont évalué la relation entre l'exposition aux moisissures et la fonction respiratoire chez les patients atteints de BPCO. Cependant, les quelques données disponibles chez les patients BPCO ou asthmatiques, mais également chez les sujets sains suggèrent un risque d'augmentation de l'obstruction bronchique chez les personnes exposées. L'exposition aux moisissures pourrait par ailleurs favoriser le développement d'infections aspergillaires invasives ou d'aspergillose bronchopulmonaire allergique chez les patients BPCO. Mais aucune étude n'a porté spécifiquement sur ce risque d'infection fongique.

5.4.3.3 Mucoviscidose

La mucoviscidose est une des maladies génétiques potentiellement graves les plus fréquentes en France, où elle touche un enfant sur 4500 naissances, soit 200 nouveaux cas par an. Elle est due à la mutation du gène CFTR (« Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator»), qui code pour une protéine régulant le transport du chlore à travers la membrane des cellules, et dont l'altération entraîne, au niveau respiratoire, un épaississement du mucus produit par les cellules qui tapissent les bronches, favorisant ainsi la multiplication des micro-organismes, notamment bactériens et fongiques.

Parmi les champignons filamenteux, *Aspergillus fumigatus, Scedosporium apiospermum* et *Aspergillus terreus* sont ceux qui colonisent le plus fréquemment ces patients (prévalences de 16-56,7%, 6,5-10% et 1,9-6,2%, respectivement). D'autres espèces plus rares, telles que *Aspergillus flavus, Aspergillus nidulans, Exophiala dermatitidis, Scedosporium prolificans, Penicillium emersonii* ou *Acrophialophora fusispora* peuvent également être isolées de prélèvements respiratoires et responsables d'une colonisation chronique (Pihet, 2009). Bien que la pertinence de cette colonisation reste controversée, celle-ci pourrait contribuer à la réponse inflammatoire locale et à la détérioration progressive de la fonction respiratoire. Par ailleurs, elle permet le développement de diverses pathologies aspergillaires, incluant asthme, bronchite, aspergillome, mais surtout l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA), qui reste la pathologie la plus fréquente chez ces patients, avec des taux de prévalence rapportés variant de 0,95 à 10,9%. Enfin, certains des champignons filamenteux colonisant les voies respiratoires de ces patients (notamment *A. fumigatus*, *Aspergillus* spp. ou *Scedosporium*) peuvent provoquer le développement de pathologies invasives en cas de transplantation pulmonaire.

Le rôle de l'exposition domiciliaire aux moisissures dans le développement d'une colonisation, sensibilisation aspergillaire ou d'une ABPA a été récemment évalué par 3 équipes françaises. La première étude, menée à Besançon sur 16 patients dont 4 atteints d'ABPA, 7 sensibilisés par *A. fumigatus* et 5 ne présentant ni ABPA ni sensibilisation, a mis en évidence la présence de quantités d'ADN aspergillaire (mesurées à partir de capteurs à poussières électrostratiques) significativement plus élevées chez les patients atteints d'ABPA comparativement aux autres groupes, mais aucune différence significative n'a été identifiée entre les niveaux mesurés par culture (Rocchi, 2015). L'étude rennaise, menée sur 34 patients, n'indique pas de différence d'exposition (mesurée par culture, à partir de prélèvements de surface au domicile) entre les patients avec marqueurs aspergillaires positifs ou négatifs (Pricope, 2015). Enfin, une étude menée à Marseille sur 13 patients colonisés par *Aspergillus*, et 13 ne présentant aucun antécédent aspergillaire montre une absence de différence significative entre les fréquences d'*A. fumigatus*

chez les colonisés et les contrôles (30,7% vs 53,8%), et, bien que non significative, une tendance à une densité d'*A. fumigatus* plus faible chez les colonisés (Sapet, 2015).

Au total, deux des trois études transversales ayant évalué la relation entre l'exposition aux moisissures et le développement de pathologies aspergillaires chez les patients atteints de mucoviscidose, basées sur des mesures d'exposition par culture (capteurs à poussières ou surfaces), n'indiquent pas de relation entre l'exposition à *Aspergillus* et la présence de marqueurs aspergillaires positifs chez les patients. La dernière étude n'identifie pas non plus d'association entre l'exposition à *A. fumigatus*, mesurée par culture à partir de capteurs à poussières, et le développement de sensibilisation à *Aspergillus* ou d'ABPA. Mais les quantités d'ADN d'*A. fumigatus* mesurées par qPCR significativement plus élevées chez les patients atteints d'ABPA suggèrent un lien possible entre le niveau de contamination fongique domestique et le développement de cette pathologie. La portée de ces données reste cependant limitée par le faible effectif de ces 3 études (16 à 34 patients). L'autre possibilité est celle d'une susceptibilité de l'hôte, favorisant une colonisation « de type parasitaire ».

5.4.3.4 Patients immunodéprimés de retour à domicile

Parmi les risques qu'encourent les patients immunodéprimés, les infections dues aux moisissures de l'environnement sont particulièrement redoutées car responsables d'une mortalité importante, de l'ordre de 50-70% (Lortholary, 2011). Le patient immunodéprimé acquiert l'infection le plus souvent par inhalation de spores et la question d'un retour dans un environnement potentiellement contaminant se pose. Deux éléments majeurs sont à considérer : les pathologies sous-jacentes et les espèces fongiques.

D'après l'expertise du groupe de travail, tous les patients immunodéprimés n'auraient pas le même risque de contracter une infection à moisissures. Les facteurs de risque seraient en effet dominés par la neutropénie et les corticoïdes à fortes doses. Ainsi, le risque serait majeur pour les hémopathies malignes dont les traitements, et plus particulièrement la greffe de moelle osseuse, induisent des neutropénies profondes et prolongées. A l'inverse, le risque serait minime dans les cancers solides. Il serait intermédiaire dans les greffes d'organe. Le risque varie aussi en fonction du temps. Le risque serait majeur en hématologie dans les premiers mois, puis disparait lorsque la reconstitution immunitaire est complète. Pour les greffés d'organes, et du rein en particulier, le risque perdure des années après la greffe en raison du maintien des traitements immunomodulateurs.

Pour les espèces de moisissures, seules celles capables de croître à 37°C peuvent induire des infections invasives. Ainsi, *Aspergillus fumigatus* est de loin l'espèce la plus souvent identifée, suivi d'*Aspergillus flavus* et de certaines espèces de mucorales (Lortholary, 2011).

Le risque de développer une infection est donc majeur dans les suites immédiates de traitements aplasiants. Ces traitements, et en particulier la greffe de moelle osseuse, sont réalisés en milieu hospitalier bien que des alternatives se développent notamment en Suède (Bergkvist, 2013). Les conditions nécessaires à la pratique d'une greffe de moelle à domicile sont contraignantes : présence constante d'un membre de la famille, compréhension de la langue, température de l'eau chaude >50°C, absence d'animaux de compagnie, pas de fleurs en pot, lavage des draps 3 fois par semaine, domicile à moins d'une heure de route du centre hospitalier. Mais la présence de moisissures intradomiciliaires n'est pas abordée. Une autre tendance plus générale, est un retour précoce au domicile après le traitement, sans attendre 3-4 semaines la sortie de l'aplasie (Walter, 2013). Les aspects pratiques des soins d'accompagnement sont pris en compte, mais pas l'état du logement ou la présence possible de moisissures intradomiciliaires (Walter, 2013).

En France, des recommandations sont données aux patients pour les six mois après le retour au domicile, issues de recommandations internationales (Yokoe, 2009) : éviter le jardinage, éviter le contact direct avec des aérosols de terre ou de plantes, et porter un masque et des gants si ces activités ne peuvent être évitées, éviter la création d'aérosols comme lors de la dispersion de

paille, se laver les mains avec du savon et de l'eau après chaque contact avec la terre ou des plantes. Ces recommandations ne sont pas propres aux moisissures, et sont pour certaines plus adaptées à la prévention d'autres infections (Toxoplasmose par exemple), éventuellement aux rares infections fongiques par inoculation transcutanée. Aucune recommandation quant à la présence de moisissures dans l'air inhalé au domicile n'existe. Seul le statut social du patient ("facteurs sociaux défavorables") est considéré dans sa prise en charge en cas de fièvre[22]. Les patients vivant seuls ou dans un milieu social précaire resteront plus facilement et plus longuement hospitalisés en soins de suite pendant la période d'immunodépression majeure ou lors de réhospitalisation.

D'après l'expertise du groupe de travail, l'amélioration des traitements médicaux et des taux de survie associés suite à un acte hospitalier pourrait *a contrario* se traduire dans les années futures par une augmentation du nombre de patients immunodéprimés à risque de développer une infection fongique lors de leur retour à domicile. En effet, ces patients pourraient revenir à leur domicile de plus en plus tôt pour des raisons de confort, pour limiter le risque d'acquisition d'infections à germes multirésistants intrahospitaliers, et diminuer les coûts liés à l'hospitalisation.

Or si les praticiens demandent un état des lieux du domicile pour les pathologies respiratoires allergiques, cette demande pour les patients immunodéprimés est réduite à l'heure actuelle et n'est pas systématique. Une seule étude a évalué et quantifié la contamination fongique des domiciles de 53 patients d'hématologie alternativement hospitalisés et suivis au domicile (Scherer, 2014). Quatorze patients ont développé une infection invasive à moisissures (dont 13 aspergilloses). Sept domiciles (5/14 pour les patients ayant développé une infection, et 2/39 pour les patients sans infection) ont indiqué un pourcentage d'*A. fumigatus* et d'*A. flavus* sur le total des moisissures détectées par culture >15%, seuil qui a permis de faire une différence pour le risque d'infection (p=0.02). Le compte total de colonies aspergillaires n'était pas associé à un risque accru, suggérant que c'est plus la perte de la diversité fongique que la charge totale qui est un facteur de risque. Si une telle hypothèse devait se vérifier, cela signifierait que l'ensemble des moisissures, ou du moins plusieurs espèces doivent être recherchées. A l'inverse, si seules les espèces thermophiles sont à rechercher, cela simplifie considérablement les méthodes (cultures à 42°C ou qPCR ciblée sur une ou deux espèces seulement (Bellanger, 2009).

Conclusion

A l'heure actuelle, le risque de contracter une infection fongique lors du retour au domicile des patients immunodéprimés à risque en lien avec une contamination potentielle du logement par des moisissures n'est pas spécifiquement considéré. D'après l'expertise du groupe de travail, le risque infectieux, et en particulier aspergillaire, est souvent perçu par les cliniciens comme couvert par les antibiotiques et les prophylaxies antifongiques, largement prescrites malgré leur coût important, leurs effets secondaires, et le risque de sélection de germes résistants.

5.5 Conclusion

Un focus sur les groupes d'individus les plus à risque en termes d'effets sanitaires par rapport à la problématique des moisissures dans les environnements intérieurs a été réalisé dans ce chapitre en considérant leur sensibilité individuelle ou un risque de surexposition de par leurs caractéristiques socio-économiques.

L'exposition aux moisissures au sein d'habitations intervient dans un cadre complexe au regard des éléments recensés dans les enquêtes nationales, et dans la littérature au demeurant assez limitée. En effet, un niveau préoccupant de contamination fongique est rarement observé comme

[22] http://espacecancer.sante-ra.fr/Ressources/Documents/Referentiels%20en%20soins%20de%20support/Urgences%20Aplasie%20f%C3%A9brile%202010_12_J2R.pdf

unique élément de dégradation. Ainsi cette problématique est à considérer dans un cadre global caractérisant l'environnement d'habitation.

La conséquence directe de ce constat est la mise en évidence d'inégalités sociales de santé engendrées par des conditions de logement dégradées ne se limitant pas à l'exposition aux moisissures. Les caractéristiques socioéconomiques des occupants d'un logement, à l'instar du statut marital ou des ressources financières conduisant à une précarité énergétique ou une sur-occupation du logement, sont des éléments majeurs. Les familles monoparentales ou les ménages disposant de revenus faibles font parties des populations pour lesquelles la problématique des moisissures est la plus fréquemment rencontrée. D'autres éléments peuvent jouer un rôle substantiel tel que l'usage du logement (gestion des ordures, animaux…), ou encore la situation géographique avec des différences d'espèces fongiques les plus présentes dans les logements selon les régions, en France comme aux Etats-Unis où des études ont été conduites.

Au regard des sensibilités proprement dites vis-à-vis d'une exposition aux aérobiocontaminants fongiques, les enfants, les personnes asthmatiques, atopiques ou présentant une hypersensibilité, les patients immunodéprimés ou atteints de pathologie respiratoires chroniques (mucoviscidose, BPCO) sont davantage susceptibles de développer des pathologies lorsqu'elles sont exposées aux moisissures que le reste de la population, ce risque étant conditionné par leur état physiologique ou leur statut immunologique. Une vigilance particulière est nécessaire vis-à-vis de ces populations à risque.

Le tableau ci-dessous présente les éléments ayant conduits à l'identification des populations à risque au regard de leur sensibilité individuelle proprement dite ou surexposée de par leur caractéristique socio-économiques.

Caractéristique ou population	**Effet sanitaire considéré**	**Eléments suggérant l'existence d'un risque accru pour cette population**	**Nature des arguments**
Enfants	Développement de l'asthme	Arguments physiologiques : vulnérabilité des voies respiratoires et immaturité des mécanismes de défense Exposition accrue aux moisissures dans les environnements intérieurs au regard de certains comportements propres à cette population (ex : mettre la main à la bouche, ramper sur le sol)	Données épidémiologiques en faveur d'une causalité
Sujets asthmatiques	Exacerbations de l'asthme	Arguments physiologiques : atteinte chronique des voies respiratoires et hypersensibilité immunologique	Données épidémiologiques en faveur d'une causalité chez l'enfant Données épidémiologiques en faveur d'une association chez l'adulte en milieu professionnel
	Risque accru d'ABPA	Arguments physiologiques : atteinte chronique des voies respiratoires	Absence de données épidémiologiques. Avis d'expert.
Sujets atopiques	Développement de l'asthme et de maladies atopiques	Arguments physiologiques : hypersensibilité immunologique	Données épidémiologiques dont les conclusions sont divergentes
Sujets présentant une hypersensibilité de type III et/ou IV	PHS ou AAE	Arguments physiologiques : hypersensibilité immunologique	Données épidémiologiques et cliniques en faveur d'une association
Patients immunodéprimés et retour à domicile	Risque accru d'infection fongique invasive	Arguments physiologiques : état d'immunodépression sévère	Quelques rares études épidémiologiques et cliniques ainsi que les retours d'expérience / pratique clinique suggèrent une association
Mucoviscidose	Risque accru d'ABPA	Arguments physiologiques : dysfonctionnement de la fonction respiratoire favorisant le développement d'infections fongiques	Quelques données cliniques ainsi que les retours d'expérience / pratique clinique suggèrent une association

Caractéristique ou population	**Effet sanitaire considéré**	**Eléments suggérant l'existence d'un risque accru pour cette population**	**Nature des arguments**
BPCO	Dégradation de la fonction respiratoire (aggravation de l'obstruction bronchique)	Arguments physiologiques : atteinte chronique des voies respiratoires	Quelques rares données épidémiologiques et cliniques suggérant une association
	Risque accru d'infection fongique invasive ou semi-invasive	Prise d'un traitement immunosuppresseur : corticoïdes systémiques	Avis d'expert
Population en précarité énergétique	A priori, tous les effets pouvant être induits par une exposition aux contaminants fongiques en air intérieur	Exposition accrue aux moisissures dans les environnements intérieurs Etat de « vulnérabilité » des occupants vis-à-vis des problèmes de santé	Résultats d'enquêtes suggérant une association
Population vivant dans un logement en sur-occupation	A priori, tous les effets pouvant être induits par une exposition aux contaminants fongiques en air intérieur	Exposition accrue aux moisissures dans les environnements intérieurs Etat de « vulnérabilité » des occupants vis-à-vis des problèmes de santé	Résultats d'enquêtes suggérant une association
Sujet vivant dans un environnement d'habitation à risque (zone rurale, zone d'inondations)	A priori, tous les effets pouvant être induits par une exposition aux contaminants fongiques en air intérieur	Exposition accrue aux moisissures dans les environnements intérieurs	Manque de preuves - Peu d'études spécifiques sur cette question
Sujets de sexe féminin	A priori, tous les effets pouvant être induits par une exposition aux contaminants fongiques en air intérieur	Exposition accrue aux moisissures dans les environnements intérieurs au regard du budget espace-temps de cette population Vulnérabilité biologique accrue	Manque de preuves - Seulement 2 études spécifiques sur cette question dont les résultats divergent
Personnes âgées	A priori, tous les effets pouvant être induits par une exposition aux contaminants fongiques en air intérieur	Arguments physiologiques : vulnérabilité des voies respiratoires en lien avec une diminution des mécanismes de défense Augmentation de la prévalence des pathologies respiratoires chroniques Exposition accrue aux moisissures dans les environnements intérieurs au regard de la sédentarité (liée à l'âge) de cette population	Jugement d'experts – Aucune étude spécifique sur cette population en lien avec une exposition aux moisissures

6 Bâtiments : développement des moisissures, prévention et remédiation

Au-delà des considérations sociales, les enjeux techniques en lien avec le bâti sont déterminants afin d'expliquer le développement de moisissures dans les environnements intérieurs. Les points critiques sont la ventilation, l'isolation et le chauffage. Des actions en amont (prévention) ou en aval (remédiation) seront proposées en fin de chapitre.

6.1 Etat des lieux du parc de logements en France

Le parc de logements en France est relativement ancien avec un taux de renouvellement lent :

- 31% avant 1949, 34% entre 1950 et 1974, 13% entre 1975 et 1981 et 22% après 1982 ;
- près de 34% du parc de logements a été construit entre 1950 et 1973, date du premier choc pétrolier après laquelle ont été promulguées les premières réglementations thermiques des bâtiments ;
- 55% des maisons individuelles n'ont pas été réhabilitées durant les 20 dernières années ;
- le taux actuel de construction neuve est de 1% par an.

Dans le cadre de la campagne nationale menée entre 2003 et 2005 par OQAI dans 567 logements de la campagne nationale « Logements », différents paramètres étaient disponibles pour caractériser le développement de moisissures :

- la présence de moisissures visibles et l'étendue de la surface contaminée : 150 pièces présentaient des moisissures visibles sur les 4691 pièces renseignées (soit 3,2% des pièces) réparties sur 91 logements (soit 16% des logements). C'est dans la chambre que les moisissures étaient le plus souvent visibles (31% des 150 cas), suivie de la salle de bains (27% des cas), puis de la cuisine (13% des cas incluant les cuisines américaines) ;
- En se focalisant uniquement sur les pièces de vie[23], 65 pièces sur les 2094 renseignées présentent des moisissures (soit 3,1% des pièces de vie). Celles-ci se répartissent dans 52 logements (soit 9,2% des logements enquêtés). À l'échelle de la population, cela correspond à 10,5% des logements soit près de 2,6 millions de logements sur les 24,7 millions de résidences entre 2003 et 2005 ;
- Une fois la présence de moisissures établie, la surface contaminée variait de 0,02 à 1,5m² par pièce de vie (médiane de 0,05 m²/pièce) ;
- la détection d'une odeur de moisi : aucune odeur de moisi n'a été perçue par le technicien enquêteur dans les deux tiers des pièces avec moisissures visibles. La moitié des pièces dans lesquelles une odeur a été détectée ne présentaient pas de moisissures visibles ;
- l'ICF développé par le CSTB et fondé sur la présence conjointe de différents traceurs de COV d'origine microbienne (cf. 3.2.3.5) : l'ICF est positif dans 181 logements (soit 32 % des 567 logements investigués).

D'après l'analyse des données de la campagne nationale logements de l'OQAI, l'ensemble des signes visibles de problèmes d'humidité est significativement plus marqué dans les logements avec moisissures par rapport aux autres ($p<0.0001$). Selon l'OQAI les logements avec moisissures

[23] Pièce à vivre inclut la chambre, le séjour, le salon, la cuisine américaine, le studio et exclut toutes les autres pièces techniques dont la salle de bains, les toilettes, le garage, la cave, la buanderie, etc

visibles représentent 16% des logements dans l'échantillon de la campagne nationale. Ainsi, la présence de traces laissées par l'humidité au cours des 12 derniers mois est plus élevée (88 % contre 34 %) ou le fait d'avoir eu recours à un traitement contre l'humidité (13 % contre 5 %) dans ces logements. De la même façon, le nombre de pièces avec des condensations persistantes (37 % contre 10 %), des taches d'humidité (94 % contre 28 %), du salpêtre ou des matériaux dégradés, décollés ou cloqués (90 % contre 26 %) et des ponts thermiques (35 % contre 8 %), est en proportion plus important dans les logements qui présentent des traces de moisissures visibles. Les logements avec présence de moisissures sont dans 65% des cas des logements individuels, le reste étant des logements collectifs. Une proportion similaire est constatée pour les logements sans présence de moisissures (60% de logement individuel). L'âge de construction des logements se répartit également de façon similaire.

Selon l'analyse faite par l'InVS de l'enquête ESPS 2010, 14% des ménages en métropole vivent dans un logement humide et/ou présentant des signes de moisissures.

D'après l'étude « Logement 2013 » de l'Insee (Arnault, 2015) portant sur 33 000 logements dont 7 000 en métropole, la présence de signes d'humidité sur certains murs est le défaut le plus fréquent de l'habitat. Il est constaté dans 20,65 % des logements. Cette enquête qui décrit les caractéristiques sociodémographiques et économiques des ménages et les modalités d'occupation de leur résidence principale porte sur les logements ordinaires, à l'exclusion des logements collectifs (foyers, internats ou casernes) et des habitations mobiles.

L'analyse de l'enquête nationale logement précédente publiée en 2006 menée par l'Insee indique que la prévalence de l'humidité s'explique principalement par l'ancienneté du logement, l'état des façades et des vitres. Près d'un tiers des logements construits avant 1948, et près de la moitié de ceux dont la façade est en mauvais état, présentaient des signes d'humidité en 2006. La proportion de logements humides est croissante avec l'âge du bâtiment, que ce soit une maison ou un appartement. Toutes choses égales par ailleurs le risque de présence d'humidité dans les appartements datant d'avant 1948 est près de trois fois plus élevé que dans ceux construits après 1999, et dans les maisons il est proche du double.

L'Insee recense 15 types de dégradations du logement, dans les proportions suivantes :

Tableau 22 : Part des logements comportant des défauts (Source : Insee, enquête Logement 2013)

Existence de signes d'humidité sur certains murs du logement	20,65%
Problème d'isolation thermique des murs ou du toit	20,56%
Fenêtres laissant anormalement passer l'air (hors grille de ventilation)	19,73%
Infiltrations d'eau	8,61%
Problème d'évacuation d'eau au cours des 3 derniers mois	4,89%
Installation électrique dégradée	4,32%
Mauvaise exposition du logement	3,59%
Pas de prise de terre dans le logement	1,53%
Mauvais état général de l'immeuble (ou de la maison individuelle)	1,40%
Revêtement et aspect extérieur de la façade principale très dégradé, avec des fissures profondes	1,35%
Pas de wc à l'intérieur du logement	0,58%
Pas de baignoire ni de douche	0,42%
Aucun moyen de chauffage	0,27%
Pas de cuisine	0,24%
Logement sans eau courante	0,06%

Champ : France métropolitaine, résidences principales.

En ce qui concerne les bâtiments performants en énergie (BPE), les données issues du programme de l'OQAI sur 32 logements indiquent que le niveau de contamination par les

moisissures diffère sensiblement selon l'indicateur pris en compte : aucun logement ne présente de moisissures visibles, mais 50% d'entre eux ont un ICF positif (24 logements retenus pour le calcul de l'ICF). Il est à noter que ces résultats étant basés sur un très faible échantillon de logements, il est difficile de les interpréter et impossible de les extrapoler à un plus grand nombre.

Au niveau des établissements scolaires et des crèches, les résultats de la campagne pilote de surveillance de la qualité de l'air intérieur demandée par le ministère chargé de l'écologie entre 2009 et 2011 mettent en évidence que 5% des 878 salles de 310 établissements présentent des moisissures visibles sans différence significative entre crèches, maternelles et écoles élémentaires. Dans un cas sur deux, les moisissures étaient localisées au niveau du plafond de la salle. Les établissements situés en zone périurbaine sont les plus contaminés (11% des salles) par rapport à ceux situés en zone urbaine (4% des salles). Des différences selon la zone climatique sont également observées entre l'Ouest et l'Est en dehors de la zone méditerranée (9% des salles en zone H2 contre 3% des salles en zone H1)[24]. L'étanchéité des ouvrants et le type de vitrage sont associés à la présence de moisissures dans les salles. Malgré le grand nombre de salles étudiées et les différentes régions couvertes, la sélection des bâtiments a reposé sur le mode du volontariat. Par conséquent, l'extrapolation des résultats à l'ensemble des établissements français reste discutable.

Dans d'autres études de moindre envergure conduites dans les écoles en France, la présence de traces de moisissures visibles n'a été détectée que dans 5% des salles et l'ICF était positif dans 17% des salles dans l'étude de déploiement des indices du CSTB (ICF et ICONE[25]) menée dans 22 écoles maternelles et élémentaires (78 salles) de 3 régions de France en 2010. Dans l'étude pilote « écoles OQAI » réalisée dans 17 écoles de Clermont-Ferrand (51 salles) en 2010, aucune salle n'a présenté de signes de moisissures mais l'ICF était positif dans 23% des salles. À l'échelle européenne, l'étude SINPHONIE menée dans 114 écoles (334 salles) entre 2011 et 2012 signalait la présence de moisissures visibles dans 7% des salles (mais 0% dans les 15 salles investiguées en France). Cette étude a également mesuré les espèces fongiques dans les poussières et a indiqué une plus grande diversité d'espèces dans les salles de classe en France, comparativement aux autres écoles européennes. Cependant, aucune trace de développement visible n'a été signalée dans ces classes. Les deux variables semblent donc être indépendantes. A l'échelle européenne, les niveaux les plus élevés dans les poussières correspondaient aux genres *Penicillium, Aspergillus* et *Paecilomyces*.

Si quelques études existent sur la variabilité de la présence des moisissures dans les logements en France métropolitaine, il y a en revanche très peu de littérature sur la situation dans les départements, régions et collectivités d'outre-mer (DROM-COM). Par rapport à ce qui est observé en métropole, dans les DROM-COM les conditions climatiques et météorologiques sont différentes. Les matériaux, les types de construction du bâti et les modes d'habitation sont également très différents. Les logements sont exposés à des conditions climatiques extrêmes et notamment à un taux élevé d'humidité (Schmit, 2012). De ce fait les habitations des DROM-COM nécessitent un entretien plus fréquent qu'en métropole, alors que le revenu moyen est bien moins élevé que celui en métropole et les ressources des ménages disponibles pour l'entretien des logements souvent plus réduits.

Dans un travail sur l'Île de la Réunion, Lucas *et al.* (2002) soulignent la différence des conditions de développement des moisissures en climat tempéré et climat chaud et humide. En climat tempéré les transferts hydriques dans les bâtiments sont généralement relativement bien contrôlés

---

[24] La France comptabilise 8 zones climatiques en fonction des températures en période hivernale (H1, H2 et H3) et en fonction des températures estivales (a, b, c et d) : http://www.developpement-durable.gouv.fr/La-repartition-des-departements.html

[25] Indice ICONE® développé par le CSTB pour suivre le confinement basé sur la fréquence de dépassement des niveaux de concentration en dioxyde de carbone (CO_2)

par des systèmes de conditionnement d'air ou de chauffage, qui assurent une température assez constante. Dans certains logements, l'humidité est également contrôlée avec précision. En revanche, en climat tropical humide la grande majorité des résidences ne sont pas climatisées et la température et l'humidité intérieure sont très variables. De ce fait les climats tropicaux chaud et humides (dans la plupart des DROM-COM) sont très favorables à la croissance fongique. Desbois *et al.* (2006) ont mis en évidence cette spécificité dans le cas de Fort-de-France, en Martinique, et soulignent que les climats de la Martinique, la Guadeloupe et la Guyane sont très favorables à la croissance fongique en générale. Ces particularités font que ces territoires nécessitent des protocoles de recherche adaptés pour permettre de saisir les interactions entre les différents éléments caractérisant le logement, le mode de vie et le contexte climatique et aéro-biologique intérieur.

En termes de présence de moisissures dans les logements en Europe et aux Etats-Unis les résultats sont plutôt convergents. Selon l'étude européenne LARES[26], il y a des moisissures visibles dans près de 25 % des logements visités (Braubach & Fairburn, 2010). En s'appuyant sur de nombreuses études de pays européens, du Canada et des Etats-Unis, l'IOM a estimé en 2004 qu'au moins 20 % des bâtiments ont un ou plusieurs signes d'humidité ou de moisissures. Cette estimation varie de 10 à 50 % selon les pays et la variation est en grande partie liée aux méthodes d'évaluation de la présence d'humidité et de moisissures. Selon le rapport du CSHPF (2006), la proportion de bâtiments présentant des développements fongiques en Europe du Nord et en Amérique du Nord est estimée entre 20 et 40%. Ainsi les différents rapports convergent vers une proportion d'au moins 20% des logements concernés par les moisissures.

Selon la Figure 21, les désordres en lien avec les bâtiments permettant d'expliquer la présence de moisissures se concentrent essentiellement autour de la ventilation, l'isolation et le chauffage au-delà des actions inappropriés de l'occupant.

Afin d'accroitre l'efficacité à long terme des interventions, l'étude globale d'un logement dans lequel des moisissures se développent est nécessaire. Barnes *et al.* (2007) soulignent l'importance d'éliminer les conditions nécessaires qu'un allergène dont les moisissures se développer cela se traduit par la suppression des matériaux allergènes et les éléments sur lesquelles ils se développent ou sont transportés. Les auteurs indiquent qu'une stratégie non-globale d'éradication des moisissures ne sera pas efficace.

[26] Une enquête paneuropéenne sur logement et santé effectuée de 2002 à 2003 dans huit villes européennes à l'initiative du programme de logement et la santé de l'OMS. Chaque enquête locale visait à recueillir des données sur environ 400 logements et 1000 habitants. Les enquêtes locales ont été menées à Angers (France), Bonn (Allemagne), Bratislava (Slovaquie), Budapest (Hongrie), Ferreira do Alentejo (Portugal), Forlì (Italie), Genève (Suisse) et Vilnius (Lituanie).

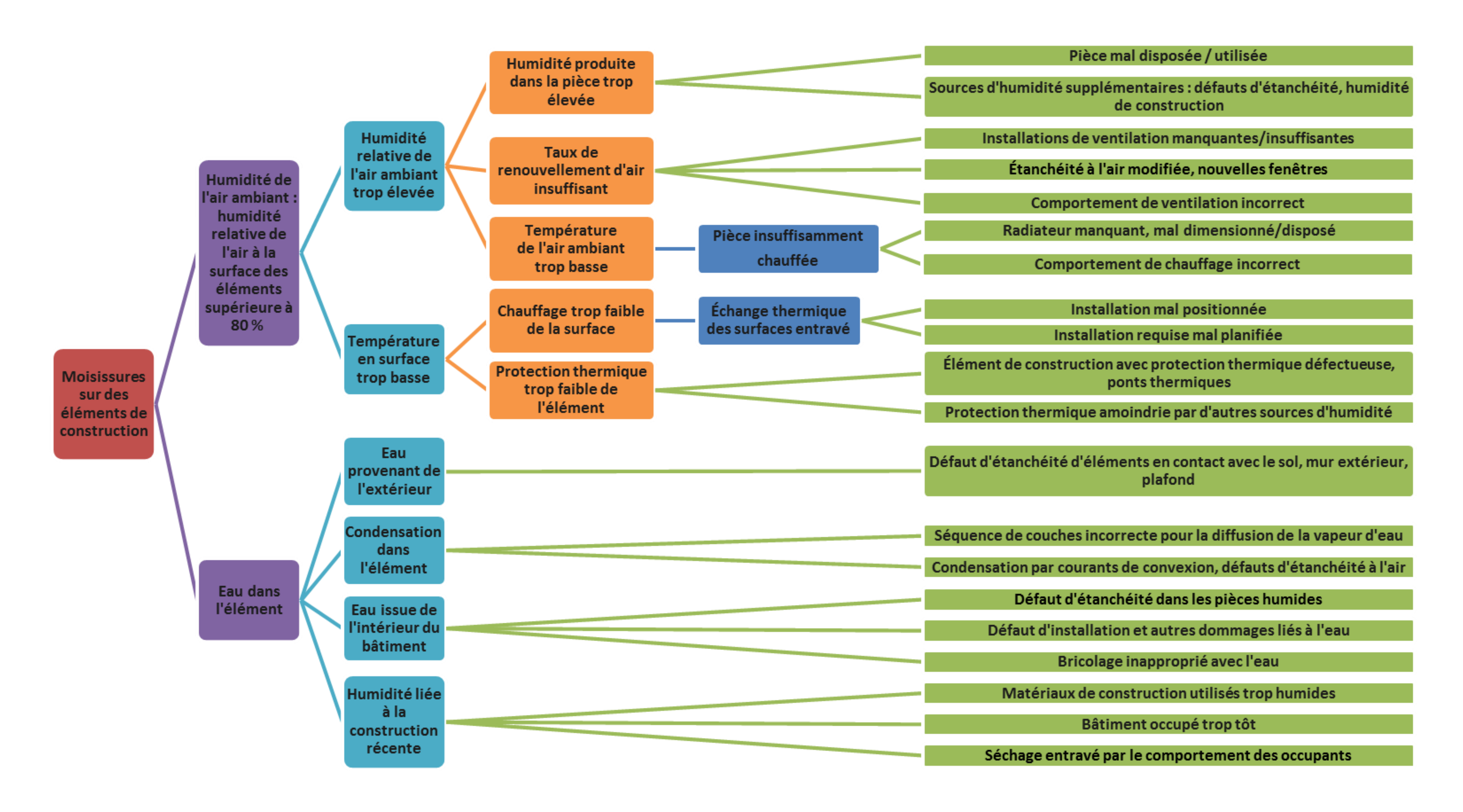


Figure 21 : Arbre des causes de présence de moisissures sur les éléments de construction (Oswald, 2003 repris par UBA, 2005)

D'après l'analyse des données de la campagne nationale logement de l'OQAI :

Ventilation

Les logements avec moisissures ne sont pas caractérisés par un type de ventilation particulier par rapport aux autres logements. Néanmoins, la différence est significative lorsque le taux de renouvellement d'air moyen sur la semaine est considéré : 69 % des logements avec moisissures présentent un taux de renouvellement d'air inférieur à 0,54 volume/heure contre 48 % des autres logements.

Bâti

La moitié des logements avec moisissures ont le plancher le plus bas de leur habitation directement en contact avec le sol. Dans 92% des cas, il s'agit de maisons individuelles. Mais à l'échelle de l'ensemble des maisons individuelles reposant directement sur le sol (49% des maisons), seules 14% d'entre elles présentent des signes de moisissures. Les autres logements reposent soit sur un autre logement, une circulation collective (couloir ou hall d'entrée), un local commercial, un garage ou un parking, une cave ou un vide-sanitaire. Les logements avec moisissures ont moins fait l'objet de travaux de réhabilitation que les autres (54 % contre 63 %).

Chauffage

La température moyenne de l'air mesurée au moment de l'enquête à l'intérieur des logements avec moisissures est en général plus basse que dans les autres logements : 69 % des logements avec une température inférieure à 20,7 °C contre 48 %. En termes d'énergie utilisée pour le chauffage, les logements avec moisissures ne diffèrent pas de manière significative des autres si ce n'est une proportion un peu plus élevée d'utilisation du gaz butane ou propane (17 % contre 11 %) et une utilisation moindre de l'électricité (8 % contre 13 %).

Focus sur l'humidité dans la littérature

Plusieurs études transversales ont mis en évidence le lien entre la présence de moisissures dans les logements et l'humidité. Les sources d'humidité peuvent être de nature variée comme l'indique la Figure 21.

Host *et al.* (2010) indiquent, dans l'enquête de l'observatoire régional de santé d'Ile-de-France (ORS-IDF) sur les effets sanitaires des moisissures dans l'habitat (ESMHA), un pilote sur les effets sanitaires des moisissures dans l'habitat portant sur 150 logements franciliens, que la survenue d'un dégât des eaux et la suroccupation (cf. chapitre 5.2.2) accentuent le risque de contamination fongique. Ainsi, la présence de moisissures visibles était très liée à l'existence d'un dégât des eaux non résolu ou résolu au cours des douze derniers mois. En effet, 56% des logements présentant un tel problème d'humidité avaient des moisissures visibles, contre 12% de ceux qui en étaient exempts.

Hulin *et al.* (2013) ont mis en évidence un lien significatif entre la présence de moisissures et l'infiltration d'eau et la condensation aux fenêtres.

Une étude de Brown *et al.* (2015) sur les relations entre facteurs socioéconomiques, modes de vie et qualité de l'air intérieur dans les logements français menée dans 567 logements représentatifs (Campagne nationale Logement de l'OQAI) établit que l'humidité spécifique[27] et l'humidité

---

[27] Selon la définition proposée par le CSTB – Guide technique : transfert d'humidité à travers les parois (2009) « L'humidité spécifique est le rapport de la masse de vapeur d'eau m_v sur la masse d'air sec m_a avec laquelle la vapeur est associée dans l'air humide. Ce rapport s'exprime en kg de vapeur d'eau par kg d'air sec, il est parfois appelé rapport de mélange (noté r) ».

absolue[28] sont les meilleurs indicateurs de la présence de moisissures dans le logement. Ces résultats sont congruents avec ceux de Dassonville *et al.* (2008).

L'étude de Roussel *et al.* (2008) portait sur 500 pièces dans 128 logements en France et cherchait à qualifier les logements dans lesquels étaient retrouvées des concentrations élevées de moisissures dans l'air. Les logements sans système de ventilation mécanique (simple flux ou double flux) (p=0,003), ayant subi un dégât des eaux (p=0,003), petits et suroccupés (p=0,03 tous les deux), équipés d'un chauffage électrique (p=0,04), versus un chauffage central, situés en rez-de-chaussée (p=0,047), présentent une concentration en moisissures significativement plus élevée. Les caractéristiques suivantes n'apparaissent pas dans cette étude comme associées à un changement significatif de la concentration totale en moisissures: la température extérieure et intérieure (p=0,10 et 0,11), l'humidité relative de l'air intérieur (p=0,21), zone géographique (urbain/rural), l'âge du logement, les habitudes de fumer dans le logement, le mode de chauffage et la présence d'animaux de compagnie.

6.2 Vulnérabilité des matériaux

6.2.1 Paramètres de développement des moisissures dans le bâti

6.2.1.1 Paramètres hygro-thermiques

Des niveaux excessifs d'eau dans les matériaux peuvent conduire à des développements de microorganismes dont bactéries, moisissures, microalgues,... Les facteurs favorisant leur développement sont la teneur en eau, la température, la physico-chimie du substrat (pH de surface, espèces ioniques et sels nutritifs, porosité et hygroscopicité), la luminosité et le temps d'exposition.

La croissance de ces microorganismes dont les moisissures peut être amplifiée par d'autres effets induits par l'humidité ou la teneur en eau dans les matériaux tels que la cristallisation des sels permettant de favoriser l'apport de nutriments ou la dégradation/corrosion (du fait de la formation d'acides organiques) des matériaux favorisant l'accès à des nutriments carbonés ou azotés initialement présents dans la matrice chimique de ces matériaux.

Un résumé des principales espèces fongiques de l'habitat selon la disponibilité en eau des matériaux (Aw) est proposé dans le rapport du CSHPF de 2006 (Figure 22), sachant que les spores peuvent survivre voir être davantage émises dans l'air lorsque l'humidité est en dessous de ces valeurs. En plus de l'humidité ambiante, d'autres facteurs liés à l'espèce, comme le caractère humide ou sec des parois des moisissures, la structure des spores ou leur position dans la colonie, sont déterminants pour la dispersion des spores dans l'air.

Matériaux à A_w> 0,95-0,90 : *Aspergillus fumigatus** , *Trichoderma sp, Stachybotrys chartarum*, Phialophora sp, Alternaria sp, Fusarium* spp, Phoma sp,* levures.

Matériaux à A_w entre 0,90 et 0,85 : *A. versicolor*, A.sydowii, A.nidulans.*

Matériaux à A_w< 0,85 : *A. versicolor*, A. glaucus, Penicillium (chrysogenum, aurantio-griseum*).*

Les noms marqués d'un astérisque désignent des organismes potentiellement toxinogènes ou pathogènes (**10**).

Figure 22: Principales espèces fongiques de l'habitat selon la disponibilité en eau des matériaux (Aw) (CSHPF, 2006)

[28] Selon la définition proposée par le CSTB – Guide technique : transfert d'humidité à travers les parois (2009) « l'humidité absolue v de l'air est définie comme étant la quantité de vapeur d'eau contenue dans l'air. Elle est exprimée en kg/m^3 ». Il s'agit du rapport entre la masse de vapeur d'eau et le volume de l'échantillon de l'air humide.

Le Tableau 23 présente les résultats de quelques études référençant les espèces fongiques isolées selon le substrat colonisé (CSHPF, 2006).

Tableau 23 : Synthèse de quelques espèces fongiques isolées à partir de divers matériaux (CSHPF, 2006)

Matériaux colonisés		Espèces fongiques isolées
MURS ET REVETEMENTS MURAUX	Murs	*Cladosporium cladosporioides, Aspergillus glaucus, Paecilomyces variotii, Penicillium glabrum*
	Peintures	*Aspergillus penicillioides, Penicillium brevicompactum, P. chrysogenum, P. glabrum*
	Papiers peints	*Alternaria alternata, Aspergillus penicillioides, A. versicolor Cladosporium cladosporioides, Paecilomyces variotii, Penicillium brevicompactum, P. chrysogenum, P. glabrum Trichoderma harzianum, Chaetomium globosum*
	Bois	*Penicillium brevicompactum*
	Colle	*Aspergillus versicolor*
	Caoutchouc des cadres de fenêtre	*Cladosporium cladosporioides*
SYSTEMES DE TRAITEMENT D'AIR	Filtres et conduits	*Aspergillus fumigatus*
	Réservoirs d'eau, humidificateurs	*Exophiala jeanselmei*
PRODUITS DE DECORATION	Textiles	*Aspergillus niger, A. sydowii, Cladosporium cladosporioides, Cladosporium sphaerospermum, Aspergillus nidulans, Aspergillus glaucus Penicillium brevicompactum, P. chrysogenum, Trichoderma harzianum, Wallemia sebi,*
	Tapis	*Aspergillus nidulans, A. glaucus Paecilomyces variotii, Penicillium chrysogenum*
	Cuir	*Aspergillus niger, A. penicillioides, A. sydowii, Cladosporium sphaerospermum, Paecilomyces variotii*
	Archives	*Aspergillus glaucus Chaetomium globosum*
	Matériaux cellulosiques	*Aspergillus sydowii, Stachybotrys chartarum*
	Caoutchouc vulcanisé	*Cladosporium sphaerospermum, Penicillium brevicompactum*
	Produits céramiques	*Aspergillus versicolor*
	Papier	*Penicillium glabrum, Wallemia sebi*
	Plastiques	*Penicillium glabrum*
	Polyuréthane, tapisserie renfermant de l'arsenic	*Aspergillus niger, Cladosporium sphaerospermum*

6.2.1.2 Paramètres des matériaux favorisant la prolifération

La prolifération de moisissures sur et à l'intérieur des matériaux du bâtiment est fonction de plusieurs facteurs qui ont été mis en évidence dans des études récentes. Les principaux paramètres influençant la prolifération de moisissures en relation avec un matériau support sont les suivants (D'Orazio, 2009 ; Andersen, 2011 ; Nunez, 2012) :

- Nature chimique du matériau,
- Présence de porosité ouverte, de surface rugueuse,
- Local dans lequel est présent le matériau,
- Nature de la souche de moisissure.

Des modèles de prédiction du développement des moisissures présentés par la suite prennent en compte les propriétés des matériaux sous forme de 4 classes de matériaux (Sedlbauer 2012), (voir Tableau 24).

Les matériaux apportant le plus d'éléments nutritifs aux moisissures sont les plus susceptibles d'en favoriser le développement. L'impact d'un matériau de construction est d'autant plus important en fonction de la proximité avec les moisissures. Les matériaux biosourcés apparaissent comme les plus favorables aux moisissures.

Tableau 24 : Classe de matériaux pris en compte dans le modèle de prédiction (Sedlbauer, 2001)

Données des couches constitutives proches de la surface		
Catégorie de substrat		**Matériaux / supports typiques**
0	Milieu de culture optimal	Milieu biologique complet
I	Substrats bio-utilisable	Papiers peints, plaques de plâtre, produits de construction avec des matières premières facilement dégradables, joints à élasticité permanente
II	Substrats de structure poreuse	Emplâtres, matériaux de construction minéraux, certains bois, isolants qui n'appartiennent pas au groupe 1
III	Substrats inertes	Métaux, isolant (aluminium, plastique), verre, carrelage

Il est à noter que les matériaux contenant de la cellulose constituent des supports propices au développement de moisissures (Johanning, 2014).

Les principales conclusions sont les suivantes :

- Corrélation forte entre la croissance des moisissures et la présence de matières organiques dans les matériaux (D'Orazio, 2009),
- Peu d'influence de la variabilité des propriétés hygrothermiques d'un matériau donné (exemple de plusieurs échantillons de plâtre) sur la croissance des moisissures,
- Les résultats pour les matériaux contenant des liants inorganiques sont assez dispersés.

La corrélation entre les souches de moisissures et les matériaux est donnée dans la publication d'Andersen *et al.* (2011). Sur la Figure 23, les différentes espèces (en italique et en bleu) sont positionnées en fonction de leur affinité aux différents matériaux. Trois « groupes » ressortent : wood-plywood (bois), paint-plaster-wallpaper (peinture, platre, papier peint) et concrete (béton) ainsi que ponctuellement brick (brique), linoleum, ...

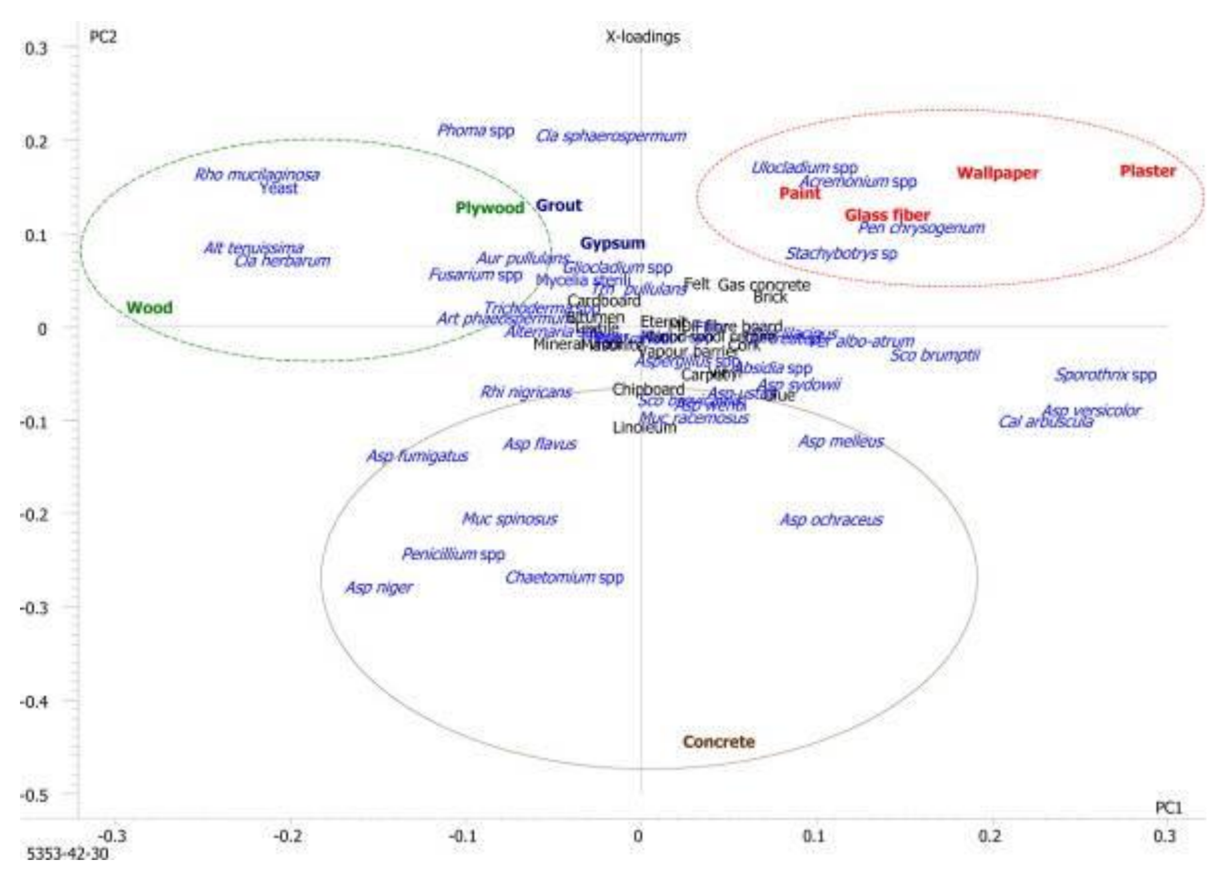


Figure 23 : Association entre la nature du matériau et les espèces fongiques susceptibles de se développer (Andersen, 2011)

6.2.1.3 Cas particulier des matériaux biosourcés

Les recherches sur les matériaux biosourcés sont relativement récentes et peu de publications traitent de la prolifération de moisissures sur ces matériaux.

Les sous-produits agricoles et autres matériaux biosourcés représentent une source potentielle de nutriments pour les champignons et les bactéries. Cependant, pour des mêmes conditions d'environnement, ceux-ci ne sont pas affectés de la même manière par la croissance des moisissures (Palumbo, 2015).

Exemple du béton de chanvre : la formulation du béton de chanvre doit être optimisée car une quantité d'eau plus importante est utilisée dans le béton de chanvre que dans les bétons ordinaires. Cet excès d'eau combiné à un séchage insuffisant du béton peut conduire au développement de micro-organismes. Les moisissures peuvent rapidement apparaître sur la surface du béton. La teneur en alcalin dans le liant ne suffit pas à arrêter le développement de moisissures.

6.2.2 Evaluation et estimation du développement des moisissures

6.2.2.1 Essais sur la résistance des matériaux de construction au développement des moisissures

Il existe des méthodes d'essai en laboratoire pour évaluer la résistance des matériaux de construction aux moisissures comme celles définie dans les normes internationales, américaines et européenne suivantes : ISO 846, ASTM C1338 et EN 15101-1 Annexe F. Il s'agit de méthodes standardisées, généralement basées sur des principes équivalents. Ces essais sont réalisés à 95% d'humidité relative, valeur retenue ici pour la croissance de moisissures. Il n'y a aucun lien avec les conditions hygrothermiques habituellement mesurées *in situ*. En outre, le champ

d'application de ces méthodes d'essai ne concerne pas spécifiquement les matériaux biosourcés, sauf pour l'EN 15101-1 qui traite de la cellulose en vrac. Les produits sont inoculés avec des spores de champignons et exposés pendant un certain laps de temps à des conditions favorables à la croissance de moisissures (90 à 95% d'humidité relative et 20°C). Après cela, la croissance des moisissures est évaluée en utilisant des moyens différents, comme l'inspection visuelle ou la gravimétrie. Une comparaison complète entre plusieurs méthodes est proposée par Johansson *et al.* (2014). Les méthodes mentionnées ci-dessus sont généralement destinées à la comparaison entre les matériaux, tous placés dans les conditions les plus défavorables, mais ne fournissent pas d'informations sur la façon dont un matériau se comportera dans un bâtiment, où les conditions d'humidité ne sont pas aussi sévères que dans les tests de laboratoire (Johansson, 2014). Afin d'évaluer la résistance des matériaux de construction à la prolifération des moisissures, le niveau d'humidité critique, défini comme les conditions d'environnement constituant la limite à partir de laquelle la croissance de la moisissure sur un matériau spécifique, doit être déterminé.

Johansson *et al.* (2014) ont ainsi comparé une méthode développée en laboratoire pour déterminer ce niveau d'humidité critique de différents matériaux avec des mesures *in situ*. Il est constaté qu'en général, les résultats peuvent être extrapolés. Cependant, l'ampleur et la fréquence des variations d'humidité relative et les changements de température dans des conditions réelles doivent être pris en considération pour des prévisions précises de croissance de moisissures. Les autres causes de discordances entre résultats de laboratoire et sur site sont les espèces fongiques utilisées pour les essais (Johansson, 2012). Lors d'un test en laboratoire, quelques espèces de champignons seulement sont présentes, à des doses contrôlées, tandis que dans les conditions réelles un plus grand nombre d'espèces fongiques est présent, et ce à des concentrations inconnues. Afin de reproduire plus fidèlement une situation d'exposition réelle, l'utilisation de spores d'origine naturelle non-stérilisés ou de substrats inoculés a été proposée par Thomson & Walker (2014).

Par ailleurs, un indice appelé Mould index permettant de quantifier le développement des moisissures sur les matériaux a été proposé. Cet indice repose sur la surface moisie et la méthode de caractérisation (approche par inspection visuelle, par microscopie) (Tableau 25 ; Ritschkoff, 2000).

Tableau 25 : Tableau d'indice fongique (Ritschkoff, 2000)

Index fongique	Surface couverte (en %)	Eléments caractéristiques
0	0	Aucun développement
1	≤1	Petit développement visible uniquement sous microscope
2	≤10	Développement modéré visible uniquement sous microscope
3	≤30	Développement visible
4	≤70	
5	>70	
6	100	

La Figure 24 représente l'évolution de l'indice fongique au cours du temps pour différents matériaux.

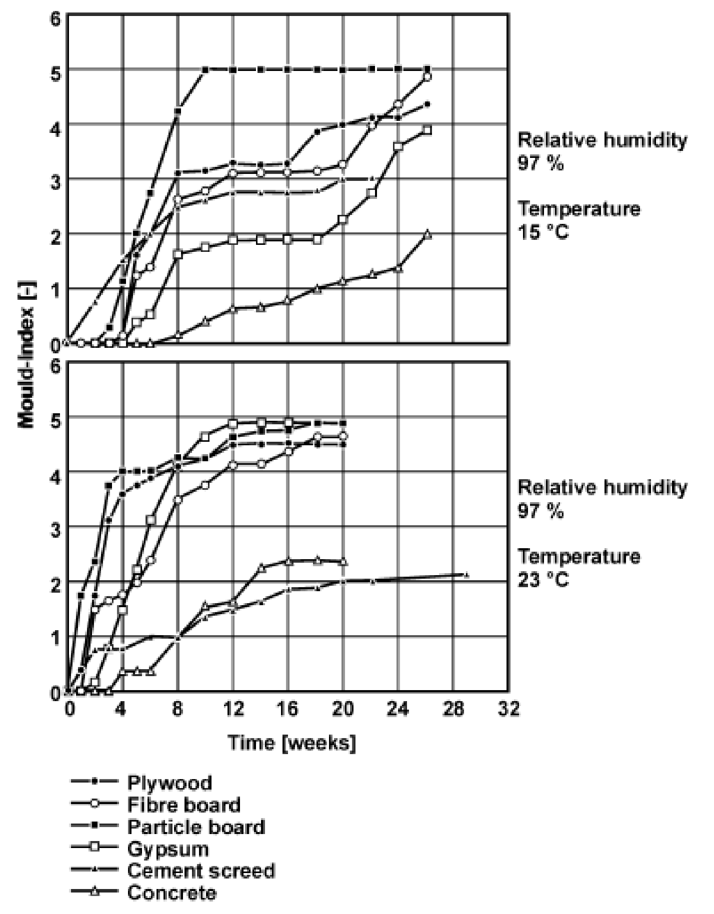


Figure 24 : Evolution de l'indice fongique en fonction du temps pour différents matériaux à une humidité relative de 97% et pour 2 températures d'après (Ritschkoff, 2000)

6.2.2.2 Les modèles de prédiction

Dans une revue de l'état de l'art sur les modèles de prédiction des dégradations biologiques (Vereecken & Roels 2012), se distinguent deux approches : statiques et dynamiques. Les modèles statiques indiquent si le processus de dégradation a été initié, alors que les modèles dynamiques permettent de simuler la croissance microbienne en fonction des données hygrothermiques.

Dans son mémoire de thèse, Berger (2014) propose une synthèse des différents modèles recensés par Vereecken & Roels (Tableau 26).

L'ensemble des modèles répertoriés considèrent la température et l'humidité relative / température sèche comme données d'entrées. Le modèle statique de l'Agence Internationale de l'Energie (IEA) considère également l'écart entre température intérieure et température extérieure comme donnée d'entrée. Un descriptif synthétique de ces modèles est donné en Annexe 15.

Vereecken & Roels (2012) concluent que malgré les efforts de recherche consacrés pour améliorer la robustesse et la précision des modèles prédictifs, il reste de nombreux verrous et hypothèses simplificatrices qui conduisent à des réponses physiques/thermodynamiques non représentatives et de ce fait à des prédictions différentes voire contradictoires d'un modèle à l'autre en terme de risque fongique ainsi que d'intensité et de dynamique de croissance fongique. A titre d'exemple, Sedlbauer (2001) propose une comparaison des facteurs et approches considérées dans les 2 modèles dynamiques Isoplethe et Biohygrothermal (Tableau 26). Certains paramètres (luminosité, apport d'oxygène, rugosité du support…) sont considérés de la même manière. Par contre les entrées importantes (température, humidité, temps) sont appréhendées de manières différentes. L'isopleth est un simple réseau de courbes, alors que le Biohygrothermal model prend en compte les phénomènes de diffusion de vapeur, de progression en régime transitoire de l'humidité, et permet ainsi un calcul « numérique » du phénomène.

Tableau 26 : Synthèse des modèles de prédiction de la dégradation biologiques (Berger, 2014)

Nom du modèle	AIE Annexe 14 et 41	*Time of wetness*	Modèle VTT	Modèle Isoplethe	Modèle *Bio*
Influence de la température	oui	non	oui	oui	oui
Influence de l'humidité relative	indirectement	oui	oui	oui	oui
Prise en compte des propriétés des matériaux	non	non	oui	oui	oui
Modélisation dynamique (D) ou statique (S)	S	S	D	D (modéré)	D
Données d'entrées	$T_{int}, T_{ext}, T_{s,int}$	φ_a	T_a, φ_a	T_a, φ_a	T_a, φ_a
Critère de pathologie	$\frac{\min T_{s,int} - T_{ext}}{T_{int} - T_{ext}} > 0.7$	$\int_0^T \frac{\max(0, \varphi_{in} - 0.8)}{\varphi_{in} - 0.8} dt$	Index de moisissure M	graphiques isoplèthes	Teneur en eau des spores

Tableau 27 : Comparaison des modèles dynamiques Isoplethe et Biohygrothermal (Sedlbauer, 2001)

Facteur d'influence	Evaluation	Examen des facteurs dans le :	
		Modèle Isopleth	*Biohygrothermal model*
Humidité	Condition de développement la plus importante	Combinaison de température et humidité relative au moyen d'isopleth	Diffusion cinétiques i.e: fonction de stockage de l'humidité valeur S_d de la cloison de spores
Température	Influence forte		Niveau transitoire de la teneur en humidité dans les spores
Temps		Données temporelles contenues dans les isopleth	
Disponibilité des nutriments		Catégorie de substrat	Considération indirecte en utilisant les catégories de substrat pour déterminer la teneur en humidité critique
Sel	Influence par rapport aux matériaux et à la contamination	Contenu indirectement dans les catégories de substrat	
pH	Changé par les espèces fongiques		
Lumière	Croissance possible même sans lumière	Pas pris en compte dans le modèle; est toujours considéré comme existant suffisamment	
Oxygène	Présence permanente		
Dissémination de spore	Les spores sont ubiquitaires		
Rugosité de surface	Seulement une faible influence	Contenus à travers les catégories de substrat	
Biotiques	Existence d'influence	Considération par LIM (Lowest Isopleth for Mould)	

6.3 Conception et éléments structurels du bâtiment

Comme cela vient d'être précisé ci-dessus, les paramètres hygrothermiques sont prépondérants dans le développement des moisissures. Si l'on souhaite éviter celui-ci, il est essentiel d'agir sur l'hygrométrie et la température des environnements intérieurs. La maitrise des paramètres hygrothermiques dans un bâtiment réside notamment dans la conception et la bonne gestion de la ventilation, de l'enveloppe du bâti et de façon plus large du système de chauffage, ventilation et conditionnement d'air (CVC). Ces trois éléments peuvent également être mobilisés dans les stratégies de remédiation des moisissures.

6.3.1 Ventilation du logement

6.3.1.1 Conception et exploitation

Le rôle de la ventilation dans les logements est d'assurer l'hygiène, le confort et la préservation de la structure de l'enceinte. Ainsi, la ventilation influe sur : la qualité de l'air en limitant l'accumulation des polluants ; les problèmes d'humidité pouvant entraîner condensation et développement de moisissures principalement dans les pièces d'eau ; le confort thermique en influant sur les flux d'air et donc les échanges thermiques et évaporatifs. L'efficacité de la ventilation dépend beaucoup des conditions extérieures (elle est beaucoup plus efficace dans les climats froids et secs), elle reste toutefois un facteur déterminant pour les conditions intérieures sous tous les climats. L'absence de ventilation entraîne le confinement du lieu de vie, qui peut avoir des conséquences sur la qualité de l'environnement intérieur et du bâtiment lui-même. Des études de cas soulignent que les dysfonctionnements des systèmes de ventilation des bâtiments, ainsi que le comportement des occupants, sont fréquemment associés à des problèmes d'humidité et de moisissures. La ventilation mécanique, qui est le seul moyen pour contrôler et optimiser, est aujourd'hui quasiment systématique dans les bâtiments neufs.

Cependant pour que la ventilation soit efficace, les gains énergétiques imposés par la réglementation thermique, ne doivent pas être faits au détriment de la qualité de l'air. En effet, les consommations énergétiques sont notamment liées à la ventilation (débits d'air ventilés et consommation électrique des auxiliaires) (Dhalluin, 2012). Ainsi, les locaux dans lesquels l'hygrométrie est variable et peut être élevée doivent être convenablement ventilés avec de l'air extérieur.

La première règlementation définissant les débits de ventilation dans les années 1950 en France avait pour objectif de préserver le bâti, car de nombreuses dégradations liées à l'humidité se produisaient dans ces bâtiments non isolés thermiquement. La ventilation, est ensuite devenue hygiénique et définie à partir de débits précisés dans les « règlements sanitaires départementaux types » et reprise dans les réglementations thermiques. Le renouvellement d'air est donc nécessaire et doit être vérifié. De nombreuses installations ne sont pas vérifiées lors de leur mise en service, leur entretien ne fait pas l'objet d'une obligation règlementaire (contrairement à l'Allemagne). La campagne nationale de l'OQAI sur le logement révèle qu'en France, les débits de ventilation réglementaires sont rarement respectés (OQAI, 2009). C'est d'autant plus vrai dans les bâtiments anciens qui sont pour la plupart équipés de systèmes de ventilation naturelle, souvent peu performants, mal dimensionnés, mal disposés, ou voire pas équipés de système de ventilation. Le choix de débits de ventilation a fait l'objet de nombreuses discussions car il faut à la fois assurer une qualité d'air suffisante (au moyen d'air extérieur) et limiter les consommations énergétiques (Figure 25). Ces deux paramètres sont antagonistes en hiver ou en été. La Figure 25 présente les évolutions règlementaires des débits d'air neuf pour l'habitat aux Etats-Unis. Il est intéressant de noter que, pour des raisons d'économies liées au choc pétrolier de 1973, l'ASHRAE a préconisé une diminution de ces débits. Cette baisse a ensuite été corrigée suite à des problèmes sanitaires (odeurs, syndrome des bâtiments malsains, ...) et d'humidité-moisissures, ce qui s'est traduit par une remontée des débits d'air neufs préconisés. L'équilibre est donc difficile à établir. Une régulation à la fois enthalpique et basée sur le taux de vapeur d'eau est la solution permettant d'optimiser cet aspect.

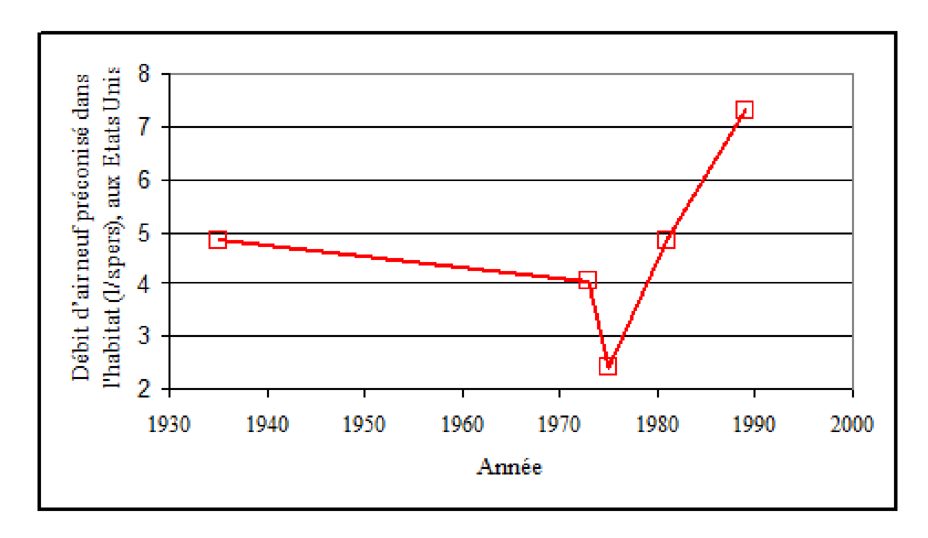


Figure 25 : Evolution des débits d'air neuf pour l'habitat, aux Etats-Unis, sur la période 1935-1989, d'après la norme ASHRAE 62-1989 et les précédentes (Ginestet, 2006)

Différentes stratégies peuvent être mises en place afin de renouveler l'air vicié, et apporter un air neuf dans les bâtiments.

La ventilation naturelle

Les débits d'air entre l'intérieur et l'extérieur des bâtiments sont créés de façon naturelle (aucune opération faisant intervenir des procédés mécaniques n'est employée). Ce type de ventilation est dû aux différences de pression autour du bâtiment, et est régi par deux phénomènes principaux :

- L'effet du vent : Les différences de pression qui apparaissent sur la façade face au vent (surpression) et sur les façades sous le vent (dépression), induisent un balayage de l'air à travers les différentes ouvertures (défaut d'étanchéité, entrée d'air, débouché de conduit), depuis les zones en surpression vers celles en dépression (Russell, 2007).
- L'effet de gradient de température appelé tirage thermique : les différences de températures entre l'intérieur et l'extérieur du bâtiment engendrent des différences de densité de l'air et donc un gradient de pression dans ces deux zones, à l'origine de la circulation d'air. Ainsi, lorsque l'air intérieur est plus chaud que l'air extérieur, ce dernier va entrer par les ouvertures de la partie basse du bâtiment et ressortir par les ouvertures de la partie haute (Concannon, 2002).

Ces deux forces motrices sont variables dans le temps et l'espace ce qui rend difficile le contrôle des débits. Dans la réalité, ces deux moteurs de ventilation agissent simultanément et peuvent avoir des effets combinés ou opposés. La différence de pression totale entre l'intérieur et l'extérieur du bâtiment résulte des effets combinés du vent et du tirage thermique. En hiver, les occupants ont tendance à laisser fermer les fenêtres, ce qui nuit à la qualité de l'air intérieur. En été, les débits de ventilation peuvent être très faibles, pouvant entraîner des surchauffes et une qualité de l'air intérieur médiocre (Dhalluin, 2012). La tendance actuelle de certains architectes est de préconiser des « cheminées solaires » pour accentuer ce phénomène de ventilation naturelle : il faut être très vigilant par rapport à ces systèmes car la force motrice engendrée est souvent insuffisante (si pas d'ensoleillement) et ne peut être fiable dans le temps, ce qui engendre globalement une ventilation insuffisante.

La ventilation mécanique contrôlée (VMC)

La ventilation mécanique consiste à forcer l'apport et/ou l'extraction de l'air de façon régulière et éventuellement modulable à l'aide d'un ou plusieurs ventilateurs, afin d'assurer un renouvellement d'air suffisant et maîtrisé.

La VMC simple flux par extraction permet une mise en dépression du logement, ainsi l'air circule des entrées d'air prévues en façade vers les bouches d'extraction, où l'air vicié est extrait vers l'extérieur à l'aide d'un ventilateur. Ce système est largement répandu dans le résidentiel neuf (Lucas, 2009), relativement simple de conception et facile d'entretien. Cette mise en dépression de la pièce ou du bâtiment permet également de réduire les transferts d'humidité à travers les parois.

La VMC simple flux par insufflation permet d'insuffler mécaniquement l'air neuf dans les pièces principales des logements, et l'air vicié est évacué par des bouches d'extraction naturelles dans les pièces de service. Contrairement au procédé en flux par extraction, le système par soufflage met ainsi le bâtiment en surpression par rapport à l'environnement extérieur et permet de limiter les infiltrations de l'air. Il présente également la possibilité de préchauffer et de filtrer l'air neuf pour réduire le transfert des polluants de l'air extérieur avant sa distribution. Cependant, la mise en surpression peut entraîner le transfert de l'humidité et donc la condensation dans les parois. Ce système de ventilation mécanique est rarement utilisé dans le résidentiel existant ou neuf (Concannon, 2002).

La VMC double flux correspond à la combinaison des procédés d'insufflation et d'extraction mécanique. Il est composé de deux ventilateurs indépendants avec deux réseaux de conduits séparés, l'un pour le soufflage d'air neuf et l'autre pour l'extraction de l'air vicié. Dans les logements, le soufflage et l'extraction se font respectivement dans les pièces principales et les pièces de service. L'équilibre des débits rend la VMC double flux efficace et peu dépendant des défauts d'étanchéité. Ce système permet, via un échangeur de chaleur ou un système de recyclage, la récupération de chaleur sur l'air extrait ce qui limite les risques de courants d'air froid sur le soufflage d'air neuf, et minimise les pertes de chaleur par ventilation. Il est donc largement utilisé dans les pays à climat froid (Månsson, 1995). En revanche, ce système nécessite un investissement initial plus important, ainsi qu'une maintenance régulière du réseau aéraulique. Une bonne étanchéité de l'enveloppe ainsi qu'un bon équilibre des flux d'air sont également requis afin de réduire les pertes en débits d'air (infiltration et exfiltration) et de garantir une bonne efficacité du système. Dans ce type de ventilation, un recyclage d'une partie du flux d'air extrait peut être mis en œuvre afin de le mélanger avec l'air neuf insufflé. Le principal inconvénient de l'utilisation d'une ventilation avec recyclage est une mauvaise élimination des polluants de l'air. Un système de traitement, généralement de la filtration sur média fibreux, est nécessaire.

La ventilation hybride

La ventilation hybride consiste à combiner la ventilation naturelle et mécanique. Cette stratégie de ventilation nécessite donc un système de contrôle gérant notamment le passage d'un mode de ventilation à l'autre afin de minimiser les dépenses énergétiques et de fournir une bonne qualité des ambiances intérieures. Ces systèmes sont par conséquent plus compliqués à mettre en place, mais aussi plus coûteux en investissement qu'un système de VMC. Trois types de ventilation hybride sont différenciés ((Heiselberg, 2002) cité par (Dhalluin, 2012)).

- La ventilation naturelle assistée consiste en un système de ventilation naturelle assisté par un ou plusieurs ventilateurs à basse pression se déclenchant lorsque les forces du tirage naturels ne sont pas suffisantes pour assurer les débits d'air requis.
- La ventilation mécanique assistée est constituée d'un système de ventilation mécanique avec des ventilateurs extracteurs basse pression. Le tirage naturel permet de compléter les débits d'air limités des ventilateurs basse pression.
- L'alternance de la ventilation naturelle et de la ventilation mécanique.

Selon l'enquête nationale menée par l'OQAI (OQAI, 2009) sur les logements en France, les ventilations mécanique et naturelle équipent de manière générale près de 70 % des logements (35,7 % des logements individuels neufs et 34 % des collectifs). La ventilation naturelle équipe 29% les logements individuels et 41 % des collectifs. Cependant, environ 20 % des logements très anciens sont démunis de tout système de ventilation.

Les exigences réglementaires françaises en termes de ventilation dans les logements sont définies par le Règlement Sanitaire Départemental Type publié au Journal Officiel de la République Française (JORF) en 1978 et modifié mais aussi plus spécifiquement par l'arrêté du 24 Mars 1982 (modifié le 28 Octobre 1983). La circulation de l'air doit pouvoir se faire par l'entrée d'air dans les pièces principales (séjour, chambres) et son extraction dans les pièces de service (cuisine, salles de bains, WC). Des notions de modulation du débit sont précisées : double débit d'extraction en cuisine et variation du débit extrait en fonction de l'humidité de l'air du logement (hygrométrie). Les débits extraits dans chaque pièce sont fonction du nombre de pièces principales du logement (Prat, 2012). Ces dispositions sont complétées et renforcées par la réglementation thermique RT2012.

6.3.1.2 Prévention

Pour finir, en ce qui concerne les bâtiments neufs (RT 2012, BBC, ...), un point important doit être relevé : ceux-ci doivent être ventilés en permanence. Tout d'abord, lors de leur construction : le séchage des matériaux mis en œuvre doit impérativement être réalisé correctement (aérations, ...). Ensuite, durant leur phase courante d'occupation (ou de vacances) : la perméabilité de ceux-ci étant aujourd'hui limitée par la règlementation (pour des raisons de maîtrise des pertes énergétiques – test porte soufflante), il est impératif d'assurer une ventilation en continu, faute de voir le risque de développement de moisissures s'accentuer. Le mode de ventilation prédominant est aujourd'hui la ventilation mécanique contrôlée (hygroréglable) par extraction. Ce système est efficace, mais nécessite une alimentation électrique permanente du ventilateur. Une panne de celle-ci, de longue durée (période de vacances) peut entraîner une augmentation du risque du développement des moisissures.

Dans le cas d'une ventilation mécanique avec ou sans recirculation d'une partie de l'air extrait, le réseau de ventilation est équipé d'une centrale de traitement de l'air (CTA) composées de plusieurs étapes de conditionnement et traitement de l'air. Les CTA sont équipées d'une batterie chaude pour le préchauffage de l'air, éventuellement d'une batterie froide pour la climatisation et d'un humidificateur pour réhumidifié l'air à 40%. Un ou plusieurs étages de filtration de l'air sont ajoutés. Deux étages de filtration mis en œuvre classiquement sont : un préfiltre G4 à F7 (suivant la série de normes NF EN 1822) suivi d'un filtre terminal F7 à F9 permettant l'élimination de la matière particulaire en suspension. L'élimination des particules peut plus rarement être réalisée par un électrofiltre. Cette étape de filtration des particules peut quelques fois être complétée par des procédés permettant la séparation des molécules gazeuses (COV, NOx) par adsorption, ou, l'oxydation de ces polluants gazeux et des microorganismes tels que les procédés plasma froid (Schmid, 2010), l'ozonation et la photocatalyse (Sánchez, 2012). Les principaux inconvénients des procédés complémentaires à la filtration sont liés à la saturation assez rapide des filtres adsorbants pouvant conduire au relargage incontrôlé de molécules gazeuses par désorption des molécules dans le flux d'air épuré, ainsi que la formation non maîtrisée d'intermédiaires réactionnels dans le cas des procédés oxydatifs (Debono, 2013; Destaillats, 2012).

D'une manière générale, une attention particulière doit être portée à la localisation des étages de filtration dans la CTA afin de permettre la rétention des particules et microorganismes aéroportés avant les étapes de conditionnement d'air. En effet, les batteries chaudes et froides ainsi que l'humidificateur peuvent constitués des foyers favorables au développement microbien (bactéries et champignons) qui peuvent être réémis dans le flux d'air épuré alimentant les logements. Ainsi, le préfiltre est souvent positionné en amont de la CTA et le filtre terminal en aval.

De plus, les stratégies de gestion des CTA (opération et maintenance) dans un bâtiment peuvent avoir un impact sur le développement fongique au sein de la CTA et le relargage de spores de champignons dans l'air traité. En particulier, le changement régulier des filtres de CTA même lorsque ceux-ci ne semblent pas colmatés est nécessaire afin d'éviter le développement fongique. Il est à noter que les filtres doivent être jetés et non pas nettoyés. De même certains auteurs ont étudiés l'influence des arrêts de ventilation (en période d'inoccupation) sur le développement fongique dans la CTA (Chow, 2005 ; Hamada & Fujita, 2002), ces études indiquent que les arrêts

de ventilation sont susceptibles de favoriser la croissance fongique bien qu'un développement ne soit pas toujours observé (Forthomme, 2014). Quoiqu'il en soit un arrêt prolongé de ventilation est néfaste à la qualité de l'air intérieur et favorise la reprise d'humidité de certains matériaux du bâti favorisant ainsi le développement de moisissures.

Des actions peuvent être entreprises concernant les gaines. En amont il est nécessaire d'isoler les gaines dans les zones non chauffées (combles par exemple) pour éviter les phénomènes de condensation. Un nettoyage régulier des gaines et des bouches de ventilation est à prévoir afin d'éviter tout développement fongique.

6.3.2 L'enveloppe du bâti

6.3.2.1 Conception et exploitation

Les paramètres hygrothermiques de surface des matériaux constituent le second levier sur lequel il est possible d'agir. La notion de température de rosée est très importante. Les travaux de l'IEA, notamment son Annex 14, soulignent son impact dans le développement des moisissures. Il est donc essentiel d'éviter la condensation de la vapeur d'eau contenue dans l'air sur les parois intérieures d'un bâtiment (Figure 26).

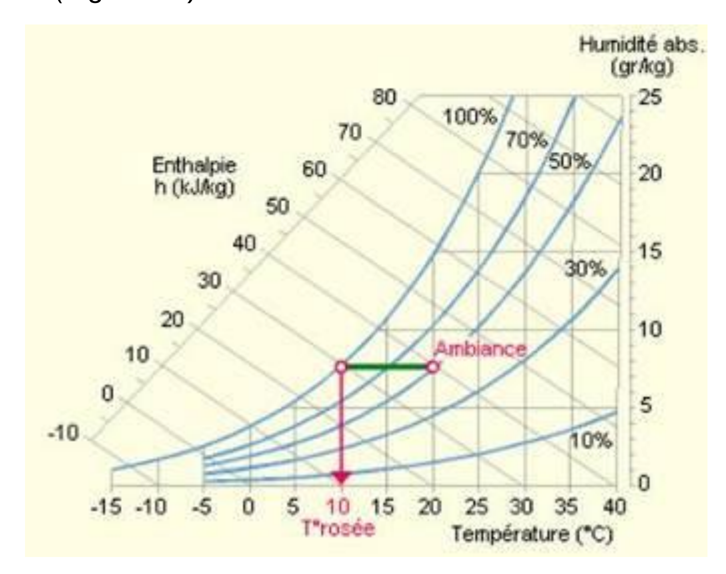


Figure 26 : Diagramme de l'air humide (d'après http://www.crit.archi.fr consulté en janvier 2016)

Ce diagramme, très utilisé par les professionnels du génie climatique, permet, par exemple, de visualiser très rapidement la température de rosée en fonction de la température et de l'humidité de l'air. Ainsi pour des conditions données d'air intérieur, il est possible de connaître la température de surface en-dessous de laquelle la vapeur d'eau va condenser en surface.

Ce phénomène peut se produire en hiver dans un local chauffé à la surface d'une paroi froide (vitrage simple, « pont thermique », ...). Un pont thermique est représenté sur la figure ci-dessous :

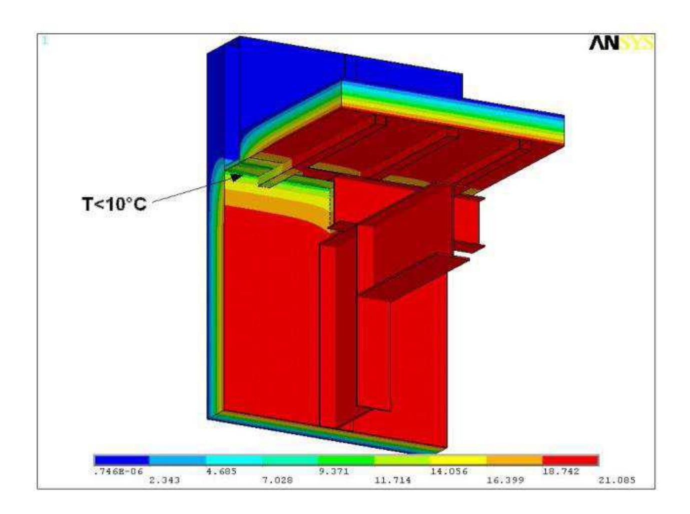


Figure 27 : Simulation numérique d'un pont thermique (assemblage de charpente métallique), source logiciel ANSYS

Il est important à ce niveau de rappeler l'impact des règlementations thermiques sur ce paramètre (Allard, 2014). Les évolutions actuelles des réglementations thermiques (visant encore et toujours à limiter les déperditions par les parois) sont très favorables : depuis la RT 2005, les ponts thermiques sont limités, voire inexistants dans les bâtiments RT2012. Ainsi, la conception des logements neufs fait que la présence de ce phénomène est extrêmement réduite si le logement a été correctement réalisé. Pour les bâtiments neufs la perméabilité à l'air de l'enveloppe est aujourd'hui limitée et contrôlée, ce qui a un effet positif en termes de maîtrise de la consommation d'énergie, mais qui peut devenir catastrophique si la ventilation mécanique fait défaut (arrêt de l'électricité, défaillance du ventilateur, ...).

Une tendance est relevée ces dernières années vers une meilleure isolation et une meilleure efficacité énergétique des bâtiments, ce qui peut altérer la qualité de l'air intérieur due à la réduction des taux de renouvellement d'air et par suite entrainer une augmentation de l'humidité. Plusieurs études de cas présentées notamment lors d'auditions ont indiqué qu'une amélioration de l'isolation peut avoir un effet négatif si elle n'est pas accompagnée d'une ventilation adéquate.

Les barrières pour lutter contre les ponts thermiques sont des procédés innovants et relativement onéreux. Leur mise en œuvre n'est pas nécessairement maîtrisée par les opérateurs actuellement.

Même si les systèmes techniques de suppression de ces ponts thermiques sont onéreux, leur effet sur la consommation d'énergie et les températures de surface sont bien réels. De ce point de vue la règlementation thermique actuelle est suffisante.

La plupart des bâtiments datant des années 50-70 comportent de nombreux ponts thermiques qui sont à l'origine de désordres liés à l'humidité (condensations en surface ou à l'intérieur des matériaux). Ces désordres se traduisent souvent par la présence de moisissures qui dégradent les surfaces (jonctions planchers – murs, poteaux-poutres, balcons, ...).

Les matériaux de l'enveloppe ont une perméabilité intrinsèque à la vapeur d'eau. Comme cela a été relevé au cours des chapitres précédents, la plupart des matériaux d'origine « minérale » (laine de verre, laine de roche, plâtre, ...), s'ils sont correctement utilisés, ne sont pas propices au développement de moisissures. C'est aussi le cas de certains matériaux comme les polystyrènes, les matières plastiques, ... La tendance actuelle est le développement de matériaux biosourcés dans les modes constructifs. Ces matériaux contiennent souvent des matières organiques qui peuvent être en contact avec l'eau, lors de la vie du bâtiment, et ainsi causer le développement de moisissures. Il convient donc d'être très prudent quant à l'utilisation de ces « nouveaux matériaux » dans le contexte actuel des bâtiments « écologiques », notamment en rénovation.

Le risque de condensation se produit si la pression de vapeur est supérieure à la pression de vapeur saturante (PV>PVs), ce qui peut être le cas si une mauvaise réalisation du pare-vapeur a

été entreprise, ou suite à une dégradation du pare-vapeur (percement, usure). La technique du pare-vapeur consiste à utiliser un matériau dont la perméabilité à la vapeur d'eau est faible, ce qui permet de limiter le flux de vapeur d'eau passant dans la paroi, et donc de réduire les risques de condensation en limitant la pression partielle de vapeur d'eau au sein des matériaux.

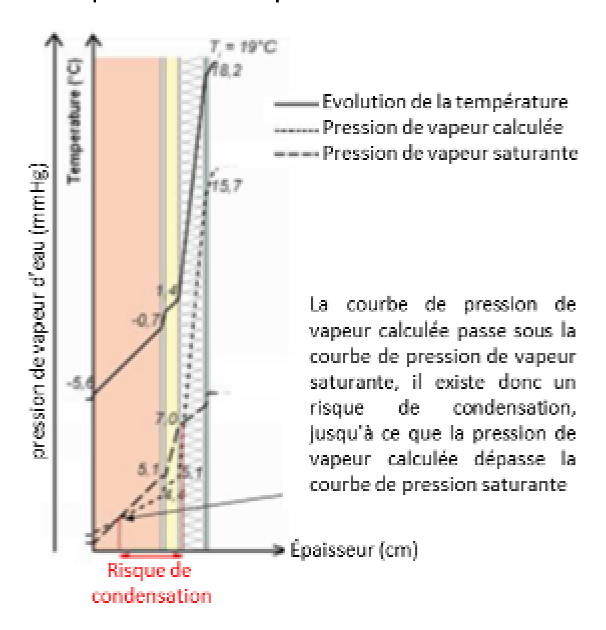


Figure 28 : Evolution des températures et des pressions partielles de vapeur d'eau dans un mur multicouche (diagramme de Glaser)

Afin de valider *in situ* la sensibilité d'une paroi, une analyse à la caméra thermique en hiver peut constituer une alternative intéressante. La Figure 29 présente une cartographie des températures de surface observées à l'endroit d'un pont thermique. On constate un écart de 6 à 7K selon les zones.

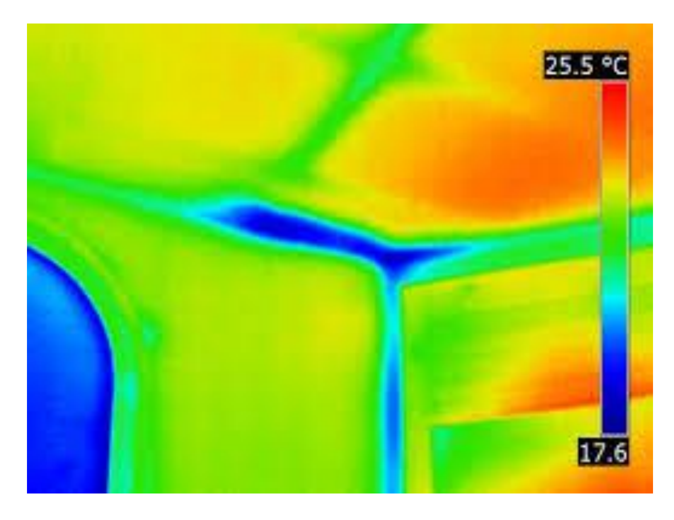


Figure 29 : Cartographie des températures de surface observées à l'endroit d'un pont thermique[29]

Enfin, l'eau peut pénétrer dans l'enveloppe ou la structure du bâtiment par deux autres voies. Tout d'abord les infiltrations liées à un défaut structural d'étanchéité. La manifestation principale est bien souvent la propagation de moisissures. L'autre voie est la remontée capillaire, notamment pour les parties du bâtiment en lien avec le sol. La structure poreuse du matériau permet à l'eau de progresser, essentiellement sous forme liquide, en fonction de la tension capillaire (fonction du rayon du pore).

---

[29] http://www.asc-thermique.fr/thermographie-ir.html




Figure 30 : Traces de moisissures dans un angle correspondant à un pont thermique (à gauche) et à une remontée capillaire (à droite)

D'après l'IEA, les éléments de construction et les structures doivent être mis en œuvre de manière à empêcher l'accès de l'eau liée aux précipitations, aux eaux de surface, aux eaux souterraines, et à l'eau des réseaux urbains. Autour des éléments de construction situés en sous-sol (et sous les structures de type plancher sur vide sanitaire ou sol), des solutions appropriées doivent être mises en œuvre pour détourner les infiltrations d'eau et empêcher l'humidité de pénétrer dans les structures.

Les revêtements de façade, fenêtres, portes, et balcons doivent être conçus de telle sorte que l'humidité puisse se dessécher. Les toits doivent avoir une pente suffisante pour que la pluie puisse être drainée correctement. Si de la condensation se produit sur la face inférieure de la toiture, ou lorsque la toiture n'est pas suffisamment étanche pour empêcher la pénétration de l'eau, la structure sous-jacente doit être protégée par une membrane imperméable à l'eau. Dans les planchers, les murs et les plafonds, qui sont censés être exposés à des déversements d'eau, à des fuites d'eau, ou à de la condensation récurrente, des matériaux de surface (et des modes constructifs) résistant à l'humidité doivent être utilisés (bardages, vêtures, ...).

6.3.2.2 Prévention

L'approche la plus efficace consiste à prévenir l'accumulation de l'humidité.

Dans le cadre de la lutte contre l'humidité, il convient évidemment de résoudre dans un premier temps toutes les formes éventuelles de fuite. Quant à la résolution fondamentale des problèmes d'humidité dus à la condensation, on distingue les espaces de séjour présentant un climat intérieur plus ou moins stable (séjour) et les pièces au climat intérieur dynamique (cuisine, salle de bain).

En présence d'une ambiance intérieure stable, les problèmes d'humidité sont prévenus essentiellement en satisfaisant, au minimum, aux normes du code de construction néerlandais (Bouwbesluit, 2003) pour les nouvelles constructions en termes :

- d'étanchéité à l'air et à l'eau du sol du rez-de-chaussée ;
- d'étanchéité à l'eau des façades et toits;
- d'isolation thermique (y compris la prévention des ponts thermiques).

Ces préconisations correspondent globalement aux règles de l'art et aux RT en France.

D'après le site du CSTB www.rt-batiment.fr, « *la perméabilité à l'air d'une construction caractérise la sensibilité du bâtiment vis-à-vis des écoulements aérauliques parasites causés par les défauts d'étanchéité de son enveloppe, ou plus simplement la quantité d'air qui entre ou sort de manière non contrôlée à travers celle-ci. Elle se quantifie par la valeur du débit de fuite traversant l'enveloppe sous un écart de pression donné.*

Paramètre important pour caractériser une enveloppe de bâtiment, la perméabilité à l'air du bâti est caractérisée dans la réglementation thermique par un coefficient de perméabilité à l'air appelé

Q4Pa-surf. Ce dernier représente le débit de fuite par m² de surface déperditive hors plancher bas sous une dépression de 4 Pa, et s'exprime en m^3/(h.m²).

Dans le cadre de la RT 2012, le traitement de la perméabilité à l'air des bâtiments à usage d'habitation est obligatoire. Il est possible de justifier ce traitement soit par une mesure, soit en adoptant une démarche certifiée de qualité de l'étanchéité à l'air du bâtiment. Les seuils réglementaires sont les suivants :

- *0,6 m^3/(h.m²) pour les maisons individuelles*
- *1 m^3/(h.m²) pour les logements collectifs*

Pour le secteur tertiaire, aucune exigence de résultat n'est imposée. Une valeur par défaut est prise en compte dans le calcul thermique. Une autre valeur peut également être prise en compte dans le calcul, auquel cas une justification du niveau atteint doit être apportée en fin de travaux.

La mesure de perméabilité à l'air d'un bâtiment n'est valide, dans le cadre de la RT 2012, que si elle est réalisée par un opérateur autorisé par le ministère en charge de la construction. »

En revanche, pour les pièces au climat intérieur dynamique, les conditions susmentionnées ne sont pas suffisantes. Des mesures supplémentaires sont ici nécessaires, telles que :

- La limitation de la dispersion de la vapeur d'eau via une aspiration de l'air installée directement au-dessus de la source (de vapeur) (ventilation ciblée).
- La limitation du Time of Wetness (TOW ou durée d'humidité) à moins de 0,5, notamment en choisissant des matériaux de finition qui absorbent le moins possible l'humidité (comme le carrelage). Rappel : la prise en compte de l'aspect dynamique peut se faire au moyen de l'indice TOW.
- Le choix de matériaux de finition qui ne constituent pas un terreau favorable pour les moisissures en termes de composition chimique (comme le carrelage).

S'il est question de remontées d'humidité, il est possible d'y remédier en appliquant une couche imperméable à l'eau sur la maçonnerie, au-dessus du niveau moyen des eaux souterraines le plus élevé. Pour limiter le transport de la vapeur par le biais du sol du rez-de-chaussée, la réduction de l'humidité relative dans le vide sanitaire en appliquant une feuille pare-vapeur en polyéthylène (PE) par exemple, un film d'isolation ou des coussins d'isolation sur le sol du vide sanitaire semble efficace. Combinée à une feuille, l'application de coquillages, de granulés d'argile expansée ou d'une chape liquide peut permettre de réduire suffisamment l'humidité relative. En présence de sols de rez-de-chaussée à base de pierre, les ouvertures, comme par exemple autour des passages de conduites, sont étanchéifiées à l'air de polyuréthane (PUR) ou de mastic. Il est préférable de confier la recommandation de telles mesures à un spécialiste de la physique de la construction.

Pour finir, les déshumidificateurs ne représentent qu'une technique d'appoint. Ils n'éliminent pas la cause du problème d'humidité, leur effet est limité et ils se révèlent inutiles en présence d'une bonne ventilation.

La disposition des meubles doit prendre en compte la prévention du développement des moisissures. Pour les maisons anciennes mal isolées et dans tous les cas où les températures en surface des murs côté intérieur sont basses (murs très froids au toucher), il est recommandé de ne pas disposer de gros meubles sur les murs extérieurs et surtout dans les angles extérieurs (par ex. une armoire), afin d'éviter une humidité accrue de l'air dans ces zones. Si cela n'est pas possible, il convient de respecter un écart de 5 à idéalement 10 centimètres entre le meuble et le mur extérieur. Il peut être également pertinent de doter les socles des meubles et les profilés de jonction muraux de fentes ou de grilles de ventilation, afin que l'air derrière puisse circuler verticalement.

6.3.2.3 Remédiation

Afin de renseigner les actions pouvant être entreprises en matière de remédiation lorsqu'une surface moisie est constatée, deux types de sources ont été mobilisées :

- les articles obtenus lors de la recherche bibliographique (cf. chapitre 2.3) dans lesquels apparaissent les termes « cleaning » ou « remediation » ou « efficiency » ont été sélectionnés en vue de présenter les principales méthodes employées.
- les préconisations issues de plusieurs institutions qui se sont positionnées sur la problématique des moisissures.

En France, le CSTB (2015) a réalisé un guide pratique *Moisissures dans votre logement ? Les éliminer en toute sécurité.* L'objectif était d'indiquer les principales actions, faciles à mettre en œuvre, pour traiter les contaminations fongiques visibles dans son logement. Le rapport du CSHPF (2006) fait également état de recommandations destinées à la phase de remédiations. Le LHVP, à l'instar d'autres institutions territoriales, ont dévelloppé une documentation à destination du publique.

Entreprendre une décontamination de matériaux nécessite d'opérer dans un cadre sécurisé pour les occupants et pour les personnes qui interviennent sur les surfaces contaminées. Le CSHPF (2006) recommande d'éloigner les personnes « à risque » (personnes âgées – enfants de moins de 12 mois – personnes greffées, immunodéprimées – malades respiratoires et allergiques chroniques).

Equipement et mise en chantier

Il est recommandé par le CSTB et le CSHPF de se prémunir d'équipements de protections individuelles (EPI). Avant le début les travaux le CSHPF recommande, lorsqu'il s'agit de zones contaminées de grande étendue comme un mur, de les recouvrir provisoirement d'une bâche en plastique scellée à l'aide de ruban adhésif, afin de contenir les éléments fongiques et les débris et poussières contaminés. Par ailleurs, il est nécessaire de confiner le lieu dans lequel les travaux vont être réalisés (notamment en obturant le bas des portes détalonnées, bouches de ventilation…). En effet, l'un des enjeux est de limiter la dissémination de poussières comme le recommande notamment le CSTB (2015) (Figure 32). Enfin, lors des travaux une humidification préalable sans détrempage est préconisée (CSHPF, 2006).

MESURES DE PROTECTION

Avant d'entamer tout chantier de décontamination, conformez-vous à la Fiche 2 « Mesure de protection ». Les principaux éléments de protection nécessaires sont :

- Des gants de caoutchouc,
- Des lunettes de protection
- Un masque de protection respiratoire jetable de type N95 ou FFP2,
- Une tenue de travail comprenant une protection de la tête.

MATERIEL NECESSAIRE AU TRAITEMENT

- 2 éponges propres,
- Des chiffons propres ou rouleau de papier essuie-tout,
- Un sac poubelle,
- 2 seaux d'eau claire,
- Une bouteille d'eau de Javel prête à l'emploi. L'eau de Javel est un produit dangereux, lisez les recommandations du fabricant avant son utilisation.

Figure 31 : Mesures de protection individuelle et matériel nécessaire au traitement des surfaces contaminées (CSTB, 2015)

PROCEDURE DE TRAITEMENT

- Appliquez la solution d'eau de javel en bouteille sur l'ensemble des surfaces contaminées à l'aide de l'éponge imbibée. Rincez l'éponge dans un des deux seaux d'eau claire. Répétez cette action autant de fois que nécessaire. Cette étape permet d'éliminer au maximum les salissures tout en limitant la mise en suspension des particules,
- Rincez la surface traitée à l'eau claire (deuxième seau) à l'aide de la seconde éponge,
- Eliminez l'eau résiduelle de la zone traitée avec un chiffon propre et sec, ou du papier essuie-tout,
- Nettoyez le chantier en plaçant tous les déchets produits (éponges, papier essuie-tout, bâche, chiffons, etc.), ainsi que vos protections jetables dans des sacs qui seront fermés hermétiquement puis mis dans la poubelle d'ordures ménagères.

Il est recommandé de parfaire le séchage des surfaces en aérant (fenêtres et portes ouvertes) le local ou en utilisant ponctuellement un déshumidificateur (fenêtres et portes fermées).

Figure 32 : Procédure de traitement des surfaces (murs, sols et plafond) contaminées (CSTB, 2015)

L'utiliastion d'un détergent est recommandée par la ville de New-York ainsi que le LHVP. Lorsque de l'eau de Javel est privilégiée, son usage doit se faire au regard de recommandations d'utilisation. Le CSHPF (2006) propose d'utiliser une solution chlorée titrant à 0,26 % ca en tenant compte de la nécessité d'obtenir une efficacité radicale, en profondeur et rapide tout en facilitant l'étape de préparation par une dilution simple à réaliser : dilution au 1/10ème à partir de la solution prête à l'emploi, soit :

- un berlingot (250 mL à 9,6 % ca) complété à 10 L par de l'eau froide,
- ou 500 mL d'une solution prête à l'emploi (2,6 % ca) dans 4,5 L d'eau froide,
- ou 1 L d'une solution prête à l'emploi (2,6 % ca) dans 9 L d'eau froide.

Le CSTB (2015) rappelle qu'il ne faut jamais mélanger l'eau de Javel avec des produits ammoniaqués ou des produits acides (produits détartrants ou vinaigre blanc) en raison des dégagements toxiques. De manière générale, l'usage de substances chimiques doit être réalisé au regard des préconisations des fabricants.

A l'issue de l'opération de décontamination, il est recommandé de dépoussiérer la zone de travail avec un aspirateur équipé d'un filtre HEPA (Haute Efficacité pour Particules Aériennes).

Hiérarchisation des interventions

Dans les cas les plus graves ou selon le type de matériaux contaminés, un simple traitement ne suffit pas, il est alors nécessaire de remplacer les matériaux contaminés.

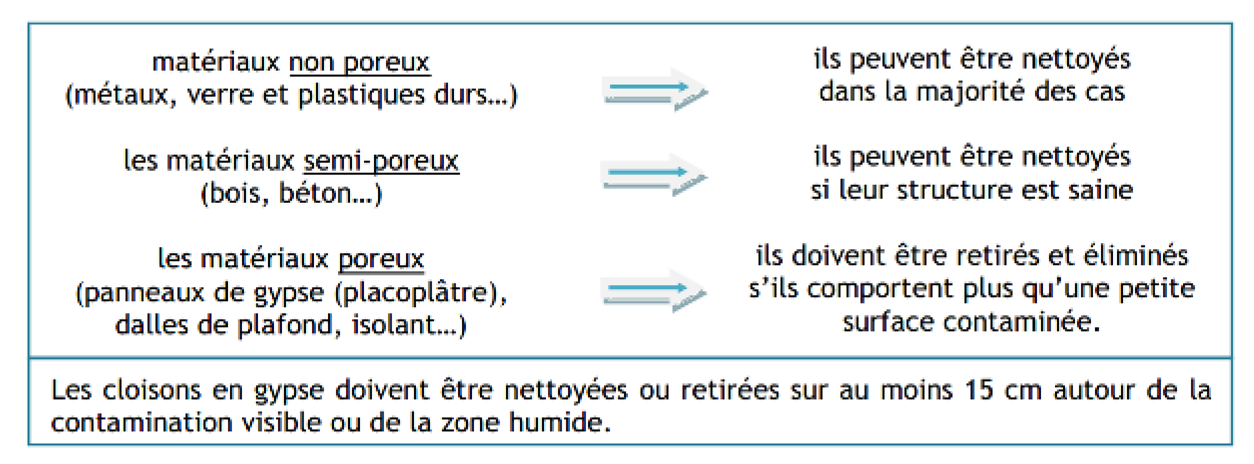


Figure 33 : Lignes directrices applicables à l'élimination d'une contamination fongique en environnement intérieur (LHVP, 2014)

Comme l'indique le CSHPF (2006), « *le plâtre et le bois sont susceptibles d'être contaminés en profondeur, les traitements de surface n'auront alors qu'une efficacité illusoire et non pérenne* »

Selon le guide sur l'air et l'humidité[30] de la Société canadienne d'hypothèques et de logement (SCHL), le logement peut être nettoyé directement par le particulier lorsque la taille des surfaces moisies est estimé petite. La surface moisie est considérée petite s'il y en a moins de trois plaques, dont chacune fait moins de 1 m^2. S'il y a plus de trois plaques ou si la superficie touchée est supérieure à 1 m^2, il faudra faire appel à un professionnel compétent en élimination de la moisissure qui pourra évaluer la situation et recommander une solution. Il pourrait également être nécessaire de demander à un entrepreneur spécialisé de nettoyer les grandes surfaces de moisissure.

Il est rappelé par ailleurs qu'un effet durable du traitement ne peut être obtenu qu'en identifiant et stoppant la source d'humidité à l'origine de la prolifération des moisissures.

La ville de New York a réalisé un guide relatif aux moisissures dans les environnements intérieurs (commerces, écoles, logements), traitant notamment des différentes stratégies d'action visant à supprimer la contamination. Les procédures à la portée des occupants sont fonction de la taille des surfaces contaminées. Ainsi les surfaces inférieures à 0,93 m^2 (10 feet^2) peuvent être gérées directement par l'occupant. Il est recommandé d'agir le plus rapidement possible lorsqu'une contamination est détectée. Différents niveaux de surfaces moisies sont rapportés dans le Tableau 28.

Tableau 28 : Surfaces moisies proposées par différents référentiels

Référentiel	**Niveau**		
	Faible	**Moyen**	**Elevé**
OMS (2004)	<0,3 m^2	0,3 m^2 - 3 m^2	>3 m^2
CSHPF (2006)	0 - 0,03 m^2 (Niveau 1) 0,03 - 0,3 m^2 (Niveau 2)	0,3 m^2 - 3 m^2 (Niveau 3)	>3 m^2 (Niveau 4)
Santé Canada (2014)	≤1m^2 et ≤ 3 plaques	>3 plaques, chacune <1 m^2 et superficie totale <3 m^2	1 seule plaque >3m^2
NYC (2008)	<0,93 m^2 : Petites aires isolées	0,93 m^2 - 9,3 m^2 : Aires isolées de taille moyenne	>9.3 m^2 sur une zone contiguë : Aires étendues (ex : murs séparés dans 1 pièce)

A la suite de catastrophe naturelle ou d'inondation importante, il est recommandé par le CDC[31] de maintenir les objets humides à l'extérieur de l'habitat pendant au minimum deux jours. Un nettoyage à l'eau chaude est recommandé.

Retour sur les protocoles de remédiation au sein d'études interventionnelles

La revue de la littérature laisse apparaitre très de procédés pouvant être mis en place par l'occupant.

Dans une étude interventionnelle, Kercsmar *et al.* (2006) mettent en place dans un groupe d'étude une remédiation des moisissures dans des logements contaminés. Cela comprend :

- Nettoyage des surfaces non-poreuses,
- Suppression des sources d'exposition,
- Arrêter les intrusions d'eau de pluie,

---

[30] http://www.cmhc-schl.gc.ca/odpub/pdf/61227.pdf?fr=1439564505034

[31] http://emergency.cdc.gov/disasters/pdf/flyer-get-rid-of-mold.pdf

- Limiter la vapeur d'eau générée dans la cuisine et la salle de bains,
- Réparation des fuites d'eau,
- Des interventions spécifiques :
  - calorifuger l'alimentation en air frais des chaudières (de la condensation pouvant se produire sur les gaines d'alimentation),
  - éliminer les systèmes de tuyaux de chauffage sous chape planchers chauffants, ...,
  - déconnecter et réorienter des descentes pluviales,
  - réduire l'humidité dans les vides sanitaires et sous-sols, par ventilation notamment.

Une étude a cherché à évaluer la contamination fongique de salles de classe finlandaises avant pendant et après des actions de gestion (Lignell, 2007). Les travaux de remédiations entrepris se sont concentrés essentiellement sur du nettoyage :

- nettoyage par voie humide des surfaces contaminées, des tables, des murs ainsi que des surfaces extérieures des conduits d'aération et d'écrans nouvellement installés,
- Tous les planchers ont été lavés et cirés et les fenêtres ont été lavées,
- D'autres surfaces ont été aspirées avec un aspirateur.

Des approches via des traitements chimiques pour améliorer la qualité microbiologique de l'air intérieur ont été recensées, notamment à partir de dioxyde de chlore[32] (Hsu, 2010). Les impacts sanitaires d'une telle stratégie n'ont pas été évalués, cette approche ne peut pas donc être recommandée en l'état. Johanning *et al.* (2014) mentionnent le peroxyde d'hydrogène, l'alcool isopropylique, l'eau de Javel, des amines quaternaires. Les auteurs indiquent que les preuves sont insuffisantes concernant l'efficacité et la sécurité de ces produits.

6.3.3 Chauffage

Comme cela a été précisé au chapitre précédent au travers de la précarité énergétique (cf. 5.2.1), la chaleur au sein d'un environnement intérieur est un facteur pouvant affecter le développement des moisissures. A humidité spécifique[33] constante, une augmentation de la température de l'air permet de diminuer l'humidité relative de celui-ci. Cette augmentation permet aussi d'augmenter globalement les températures des parois, dont celles susceptibles d'être le lieu de condensations. Afin de limiter les points froids ou une accumulation d'humidité durant les périodes nocturnes, les installations de chauffage doivent être correctement dimensionnées et réalisées.

6.3.3.1 Conception et exploitation

Principalement deux types de chauffage sont présents sur le marché :

- Chauffage par eau chaude (chaudière puis émetteurs à eau : radiateurs, planchers chauffants hydrauliques, convecteurs à eau…)

  Une attention particulière doit être accordée à la réalisation des réseaux hydrauliques (notamment les tubes en polyéthylène (PE) ou autres noyés dans les chapes des planchers chauffants) de manière à éviter des fuites d'eau. Une vérification de la pression du système permet de valider l'absence de fuites qui feraient baisser celle-ci.
- Chauffage par air (voir partie ventilation)

---

[32] http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_258&section=generalites

[33] Selon la définition proposée par le CSTB – Guide technique : transfert d'humidité à travers les parois(2009), « l'humidité spécifique est le rapport de la masse de vapeur d'eau m_v sur le masse d'air sec m_a avec laquelle la vapeur d'eau est associée dans l'air humide. Ce rapport s'exprime en kg de vapeur d'eau par kg d'air sec, il est parfois appelé rapport de mélange (noté r) »

> Les systèmes chauffage, ventilation et climatisation (CVC) actuels tendent à intégrer les énergies renouvelables et à minimiser les consommations d'énergie. Dans ce cadre, de nombreuses innovations voient le jour régulièrement. Il convient d'être particulièrement attentif au respect de la qualité de l'air de ces installations.

Les puits canadiens (Figure 34) sont généralement conçus de manière à ne pas laisser entrer de poussières ou d'animaux, mais la prise en compte de condensation à l'intérieur de ces équipements est relativement mal connue. Pour l'instant il n'y a pas d'expertise du CSTB concernant ces équipements. Il faut se reporter à la règlementation sanitaire conventionnelle pour la qualité de l'air intérieur et l'entretien des réseaux de distribution.

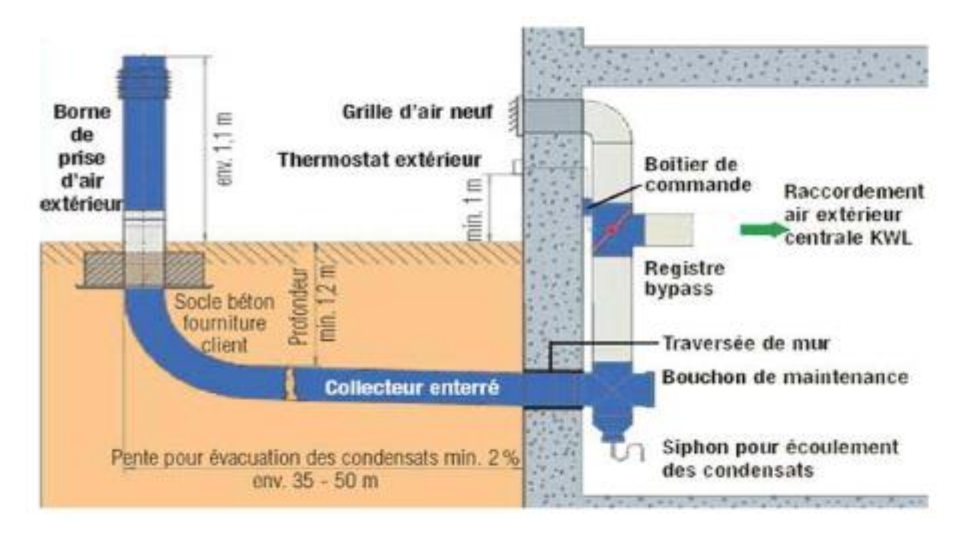


Figure 34 : Schéma de principe d'un puits canadien (Hohotă, 2008)

Une étude bactériologique réalisée par une équipe suisse de l'université polytechnique de Zurich est souvent citée dans la littérature (Flückiger, 1997). Elle a déterminé la qualité de l'air extérieur (mauve), à la sortie du puits canadien (grenat) et de la bouche de soufflage des pièces de la maison (jaune) sur plusieurs installations hétérogènes (la plus ancienne ayant 14 ans).

Les conclusions de l'étude indiquent que les concentrations de champignons et de bactéries dans l'air insufflé sont très nettement inférieures à celle présentes dans l'air extérieur. En sortie de puits, deux installations présentent toutefois une légère augmentation de la quantité de bactéries. Une analyse plus fine permet de mettre en évidence que le surdimensionnement (diamètre trop important et donc vitesse de l'air trop faible dans le conduit) et une filtration grossière en entrée sont à l'origine de ce développement de bactéries. Cette étude mériterait d'être confrontée à d'autres études réalisées en France pour pouvoir conclure de manière plus générale.

Pour combattre la prolifération de bactéries, un fabricant propose également des conduits avec une couche intérieure présentant des propriétés bactéricides. Par précaution, il est souvent nécessaire d'installer un échangeur double flux à l'extrémité de ceux-ci. Leur performance s'en voit pénalisée, mais la qualité d'air est préservée.

On peut aussi citer les chauffe-eaux thermodynamiques dont le développement est en pleine expansion. Selon la source d'air qui assure l'absorption de calories (air intérieur, extrait ou extérieur) des précautions doivent être prises pour s'assurer de leur salubrité.

De manière générale, et sans se cantonner aux systèmes innovants, dès qu'un équipement de climatisation entraîne la condensation de l'humidité présente dans l'air, il est impératif d'assurer une évacuation correcte de l'eau condensée (siphon vers les égouts) afin d'éviter la prolifération de bactéries. En amont il est nécessaire d'éviter le recours à des modes de chauffage sans évacuation des fumées de combustion, tels les poêles à pétrole ou à bois qui produisent d'importantes quantités de vapeur d'eau (CSTB, 2015).

Il est impératif de prévoir une puissance de chauffe suffisante. A ce titre, la conception des installations de chauffage prenant en compte la norme NF EN 12831 de calcul des déperditions thermiques doit être respectée.

Il est aussi souhaitable d'éviter d'avoir des locaux non chauffés, notamment si la paroi séparative entre ceux-ci et les locaux chauffés est peu isolée. Les émetteurs intégrés au bâti comme les planchers chauffants constituent une solution intéressante. En effet, l'émission de chaleur par rayonnement de surface permet d'assurer une homogénéité des températures de surface et ainsi éviter les points froids.

Il est essentiel de vérifier que les températures d'air atteintes sont suffisantes comme indiqué ci-dessous (interaction avec les occupants).

Chambre :

Chaque nuit, une personne rejette environ 1/4 de litre d'eau dans l'air ambiant. C'est pourquoi la température de l'air ambiant dans les chambres (dans la mesure où la fenêtre ne reste pas ouverte toute la nuit) ne doit, dans la mesure du possible) pas descendre en deçà de 16 °C

Pièces inutilisées :

Même les pièces peu ou pas utilisées sur de longues périodes doivent être légèrement chauffées. Les portes des pièces peu chauffées doivent rester fermées. Il n'est pas pertinent de mélanger l'air des pièces froides avec l'air des pièces chaudes. En effet, cela évite d'amener de la chaleur mais aussi de l'humidité dans les pièces froides. Lorsque l'air refroidit, l'humidité relative de l'air ambiant augmente et il existe alors un risque de développement de moisissures.

Préconisation de l'UBA en matière de chauffage (UBA, 2005)

La baisse de température de l'air, le plus souvent la nuit par le biais du chauffage central de la maison, permet de réaliser des économies d'énergie. Il convient toutefois de tenir compte du lien maintes fois évoqué avec l'humidité de l'air ambiant. En cas d'humidité accrue de l'air, la température ne doit être baissée que si la ventilation est suffisante pour sécher l'air.

6.4 Focus sur les mises en chantier des bâtiments neufs et la rénovation dans l'ancien

Il nous est apparu intéressant de réaliser un focus au sujet de problématiques de terrain actuelles comme la prolifération de moisissures sur des chantiers de bâtiments neufs ou rénovés récemment.

6.4.1 Bâtiments neufs : conception et mise en chantier

Une attention particulière doit être apportée à la conception des salles humides (cuisine, salle de bains, toilette, ...) ainsi qu'aux vides sanitaires. Les pièces humides :

- ne doivent pas comporter de zone où l'eau puisse stagner,
- ne doivent pas (si possible) comporter de zone froide (conception de l'enveloppe),
- doivent être correctement ventilées de manière mécanique,
- doivent pouvoir être entretenues (lessivage des surfaces, nettoyage des bouches de ventilation, ...) de manière aisée.

En ce qui concerne les vides sanitaires, ceux-ci :

- doivent être correctement ventilés,

- ne doivent pas comporter de zone où l'eau puisse stagner,
- doivent pouvoir être inspectés.

Enfin, les phénomènes suivants :

- remontées capillaires depuis le sol ou le sous-sol,
- stagnation de l'eau de pluie liée à une mauvaise conception (pentes, ...),
- condensation à l'intérieur des parois (mauvaise conception du pare-vapeur),
- nappe phréatique trop proche du bâtiment,
- …

doivent être évités par tous les moyens possibles. Il convient tout d'abord de respecter les « règles de l'art » ou les Document Techniques Unifiés.

Remarque : dans le cas des locaux comportant des rideaux ou des lambris, « Les lambris et les rideaux doivent intégrer une « ventilation arrière ». Les rideaux et voilages ne doivent pas toucher le sol et ils doivent disposer d'une fente de ventilation en haut. Derrières des lambris, il est fortement recommandé de pratiquer des fentes pour la ventilation verticale. »

La réalisation/construction de bâtiments neufs, notamment par voie « humide » c'est-à-dire utilisant *in situ* des matériaux nécessitant de l'eau pour leur hydratation (prise du béton, des mortiers, des plâtres) est à examiner avec précaution dans le cadre des bâtiments neufs (RT 2012, équivalents BBC). En effet, il a été récemment constaté sur plusieurs chantiers que lorsque le bâtiment est hors d'eau- hors d'air, les moisissures se développent rapidement, si les locaux ne sont pas ventilés (ce qui est toujours le cas car les ouvrants sont fermés, pour éviter les vols notamment). Les auditions ont permis de constater que les professionnels du bâtiment sont peu sensibilisés à ces problématiques.

La construction par voie « sèche » (utilisant des éléments préfabriqués en usine) semble moins concernée par ce phénomène.

Les dégâts des eaux en phase de construction sont aussi monnaie courante. Il est donc essentiel de ne pas mettre hors d'air le bâtiment de manière trop prématurée.

6.4.2 Rénovation

Dans le cadre des plans de rénovation urbaine lancés ces dernières années par les pouvoirs publics, de nombreux logements sociaux datant des années 50-60 ont été rénovés thermiquement. La rénovation thermique comprend généralement :

- Une mise en place d'une isolation thermique par l'extérieur pour les parois opaques,
- Un remplacement des fenêtres par des fenêtres équipées de doubles vitrages et dont la menuiserie est équipée munis d'entrées d'air,
- Une mise en place d'une ventilation mécanique contrôlée (souvent basée sur le réseau de ventilation naturelle préexistant),
- Une éventuelle rénovation des systèmes de chauffage.

Au regard des auditions réalisées, il est apparu qu'un manque de coordination apparaissait entre professionnels du bâtiment (non adéquation du système de ventilation au regard de l'isolation du logement), créant un terrain favorable au développement fongique.

Malgré le respect des règles de l'art, il arrive parfois que des condensations se produisent sur l'intérieur des parois opaques isolées par l'extérieur. Alors qu'aucune intervention n'a eu lieu à l'intérieur du bâtiment (l'isolant est posé depuis l'extérieur), de l'eau apparait sur ces parois. Les expertises sont actuellement en cours pour en déterminer les causes. Parmi les pistes que l'on peut évoquer :

- Un défaut de ventilation : malgré la mise en place de la VMC, les entrées d'air ne sont peut-être pas suffisantes, ou convenablement placées,
- Une mauvaise gestion du logement par l'occupant (niveau de température, linge qui sèche à l'intérieur, ...).

6.5 Conclusion

L'état des lieux sur la situation française s'appuie sur les données de différentes enquêtes s'intéressant aux logements et documentant la contamination fongique par la recherche de signes apparents comme la peinture boursoufflée, des taches au plafond ou sur le bas des murs, une odeur d'humidité ou de moisi dans un bâtiment. La présence de moisissures visibles dans les logements français varie de 14 à 20% selon les sources. En Europe et Amérique du Nord, il est estimé qu'au moins 20% des logements sont concernés par la présence de moisissures.

Pour aller plus loin que l'observation visuelle, l'OQAI dispose de données pour différents paramètres permettant d'évaluer le développement des moisissures dans les logements, les bâtiments performants en énergie et les écoles. L'analyse des données de la campagne nationale Logement ainsi que les données de la littérature ont permis d'appréhender les déterminants de la contamination fongique et de l'exposition aux moisissures dans les logements.

Des enjeux techniques en lien avec le bâti sont déterminants afin d'expliquer le développement de moisissures dans les environnements intérieurs. Les points critiques sont la ventilation, l'isolation et le chauffage sur lesquels il convient d'agir de façon globale.

Les phénomènes relatifs à la présence d'humidité (notamment dans sa phase liquide, liée à la condensation ou à une intrusion parasite (fissures, remontée capillaires, ...)) dans les enveloppes de bâtiments et les systèmes de ventilation sont à l'origine de l'apparition de moisissures. Les paramètres de température de paroi et de surpression/ dépression d'air sont aussi très importants et doivent être considérés en parallèle.

Les travaux expérimentaux concernent principalement la nature des matériaux favorables à la prolifération des moisissures ainsi que la modélisation permettant de prédire la croissance des moisissures. Les matériaux contenant de la cellulose constituent des supports propices au développement de moisissures ainsi que d'autres substrats bio-utilisables : papiers peints, plaques de plâtre, produits de construction avec des matières premières facilement dégradables, joints à élasticité permanente, ...

Aucune solution pragmatique n'est proposée dans la littérature. Chaque élément est étudié distinctement et les phénomènes d'interaction macroscopique (ponts thermiques, défauts d'enveloppe, absence ou mauvais dimensionnement ou régulation de la ventilation ...) ne font pas partie des thématiques de recherche.

Une amélioration des connaissances des acteurs du bâtiment concernant l'identification des causes et la proposition d'interventions efficaces afin de supprimer ou réduire l'humidité et les moisissures dans le bâti devraient figurer dans les priorités de l'action publique française. Une attention particulière est à porter sur deux problématiques de terrain : la mise en chantier des bâtiments neufs et la rénovation de l'ancien.

7 Gestion : politiques publiques et réglementation

Les approches mises en œuvre pour appréhender la problématique de la contamination du bâti par les moisissures ainsi que les démarches qui en découlent sont présentées dans ce retour d'expérience. Les auditions réalisées au cours de l'expertise ont permis d'établir certains constats sur les pratiques du terrain visant à remédier aux moisissures dans le bâti. Par ailleurs des recommandations ont pu également être recueillies. Les solutions ne sont pas forcément identiques, du fait de bâti ayant des fonctions variables. La problématique des moisissures est en effet présente dans les logements, mais également au niveau d'établissements recevant du public, notamment des écoles. Les bureaux semblent moins contaminés. Le focus sera porté dans la suite de cette partie sur les logements.

7.1 Cadre réglementaire

7.1.1 En France

Les travaux d'expertise demandés à l'Anses en janvier 2014 s'inscrivent dans l'engagement des politiques publiques pour l'amélioration des connaissances dans le domaine de la qualité de l'air intérieur. Depuis quelques années, une attention croissante est portée à ce sujet. Dans la continuité des précédents plans nationaux santé environnement (PNSE 2004-2008 et 2009-2013), le plan 2015-2019 (PNSE 3) intègre plusieurs propositions relatives à la qualité de l'air intérieur en reprenant *in extenso* le Plan d'action sur la qualité de l'air intérieur publié en 2013.

La réglementation dans le domaine de la qualité de l'air intérieur repose à la fois sur la prévention de la santé publique associée à certains polluants (amiante, radon, monoxyde de carbone (CO), tabagisme passif) mais aussi sur les engagements du Grenelle de l'environnement d'étiquetage des matériaux pouvant émettre des polluants dans l'air intérieur et de surveillance de la qualité de l'air intérieur dans les établissements recevant du public (ERP).

La surveillance de la qualité de l'air intérieur va se mettre en place progressivement notamment dans les établissements accueillant des enfants[34]. L'évaluation des moyens d'aération et la mesure de polluants (formaldéhyde, benzène) et du dioxyde de carbone en tant qu'indicateur de confinement sont proposés avec des dispositions particulières de prévention de la qualité de l'air[35].

L'évaluation des moyens d'aération du bâtiment peut être effectuée par différents acteurs techniques ou spécialisés[36]. L'évaluation des moyens d'aération des bâtiments comporte notamment une description de l'établissement, la liste des pièces investiguées, le mode d'aération ou de ventilation principal des bâtiments composant l'établissement et l'état des ouvrants et des bouches d'aération des pièces investiguées ainsi que les conclusions de l'évaluation des moyens d'aération. Un modèle du rapport demandé par la réglementation sera défini par arrêté des ministres chargés de l'environnement, de la santé et de la construction.

---

[34] Article R221-30 du code de l'environnement (Décret n°2011-1728 du 2 décembre 2011 modifié par le décret n°2015-1000 du 17 août 2015)

[35] Décret n°2012-14 du 5 janvier 2012 modifié par le décret n°2015-1926 du 30 décembre 2015

[36] services techniques de la collectivité publique ou de la personne morale propriétaire ou exploitant du bâtiment, par un contrôleur technique au titulaire d'un agrément l'autorisant à intervenir sur les bâtiments, par un bureau d'études ou par un ingénieur-conseil intervenant dans le domaine du bâtiment, ou par un organisme effectuant les prélèvements ou analyses

Il n'existe pas actuellement de mesures spécifiques dans la réglementation prenant en considération uniquement les moisissures dans le bâti.

La politique publique dans le domaine de l'habitat s'est traduite par l'adoption de nombreuses lois et la mise en place de programmes et plans qui se nouent autour d'acteurs et d'outils différents au croisement d'enjeux sociaux, sanitaires et politiques. L'action publique n'a pas réussi jusqu'à présent à surmonter les difficultés pour mettre en œuvre une approche globale de la question. De nombreux acteurs concourent à l'amélioration de l'habitat dégradé tout en répondant à des enjeux spécifiques.

Différentes notions sont employées qu'il est important de distinguer et font référence aux dispositions législatives et réglementaires différentes présentées ci-dessous dans l'ordre chronologique. Il est possible de représenter ces notions comme indiqué sur la Figure 36 :

- ***Habitat insalubre*** reposant sur des conditions de nature à porter ***atteinte à la vie ou à la santé de leurs occupants.***

- ***Habitat indigne*** recouvrant notamment des situations ***d'atteinte à la dignité humaine***. Ce terme englobe les logements insalubres, ceux concernés par les risques d'exposition au plomb, les immeubles en péril et les locaux impropres à l'habitation.

- ***Habitat indécent*** concernant les conditions de logements locatifs au regard de la ***sécurité physique et de la santé des locataires***.

La règlementation a d'abord porté sur l'habitat insalubre qui remonte à la fin du XIXème siècle relevant des pouvoirs du maire puis du préfet. Les dispositions sur l'insalubrité ont été complétées et relancées à partir des années 1970 notamment pour la suppression de l'habitat insalubre et le soutien financier de l'amélioration de l'habitat. La lutte contre l'habitat indigne a été introduite en 1990 associé au droit au logement dénonçant les mauvaises conditions de logements. A la même période, le droit à un habitat décent pour les locataires est mis en place. Depuis les années 2000, de nombreuses lois ont réformées les différents dispositifs existants sur l'habitat. Les grandes dates instituant les dispositions de lutte contre l'habitat insalubre et indigne ainsi que le droit aux locataires à un logement décent sont décrites dans la Figure 35.

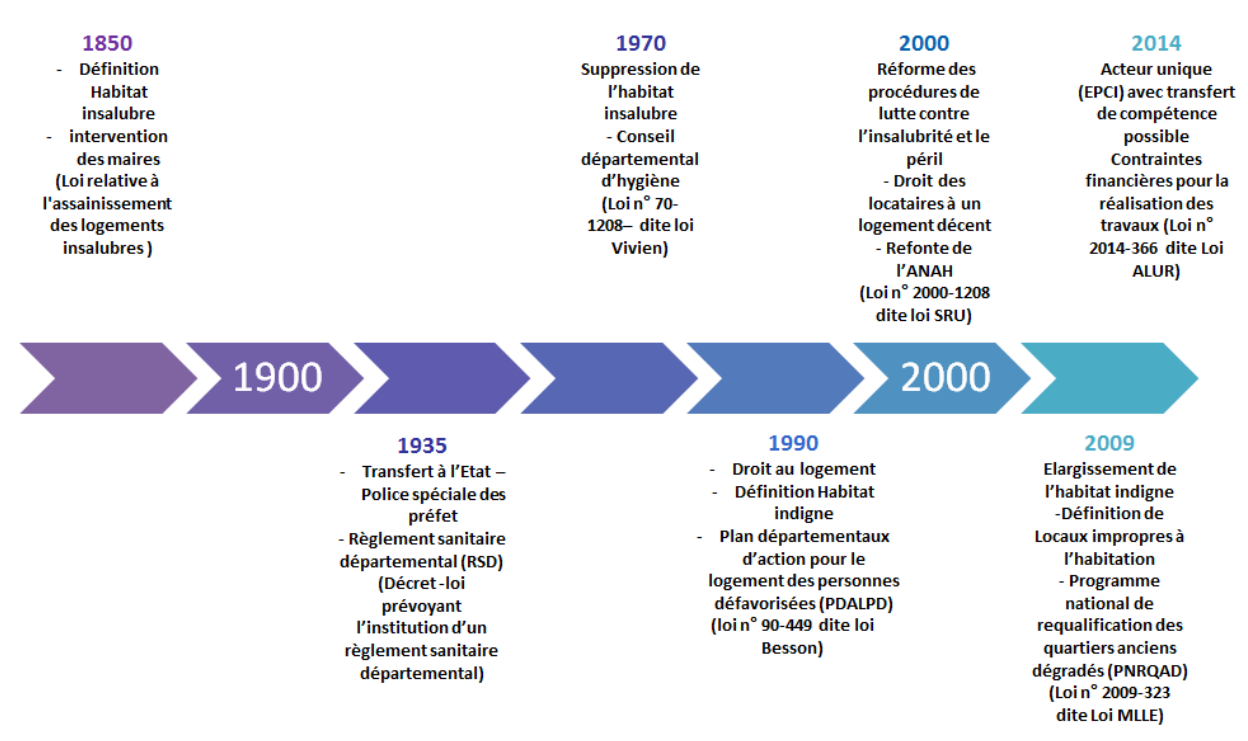
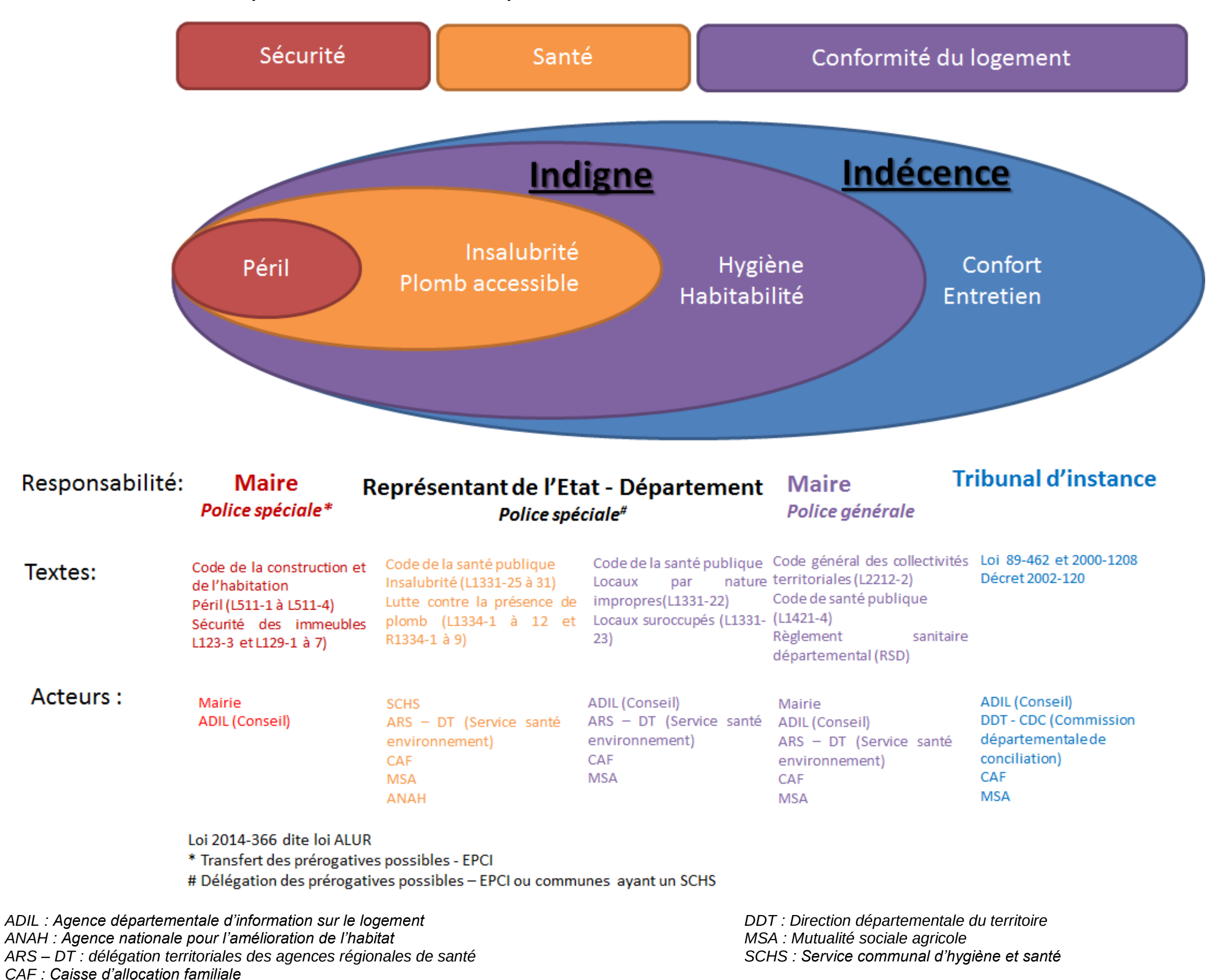


Figure 35 : La politique de l'habitat au fils du temps

La loi 2000-1208, dite loi SRU « solidarité et renouvellement urbain », visait la modernisation du dispositif d'insalubrité et un renforcement de la capacité d'action des acteurs publics. Dans les différents textes réglementaires publiées à la suite, les objectifs sont les suivants : simplification et harmonisation des divers régimes de police administrative et des commissions associées *via* l'installation des conseil de l'environnement et des risques sanitaires et technologiques (CoDERST), la protection des droits des occupants et propriétaires, renforcement de contraintes et sanctions pénales pesant sur les propriétaires, les mesures et traitements d'urgence, la garantie des créances publiques (ordonnance du 30 juin 2005 et du 15 décembre 2005, décret 2006-1359, ordonnance du 16 janvier 2007…).

La loi n°2014-366 dite Loi ALUR « accès au logement et un urbanisme rénové » propose un acteur unique disposant de l'ensemble des leviers d'intervention dans la lutte contre l'habitat indigne, l'établissement public de coopération intercommunationale (EPCI). Elle permet la création au niveau intercommunal d'un Service Intercommunal d'hygiène et de santé dédié à la Lutte contre l'Habitat Indigne et les BAtiments Dangereux (SILHIBAD) intervenant sur l'ensemble des polices spéciales de l'habitat et le transfert des certains pouvoirs de police des préfets et maires aux présidents des EPCI.

Le recouvrement des notions d'habitat indécent, indigne et insalubre, les responsabilités et textes de référence ainsi que les acteurs sont précisés dans le schéma suivant[37].



ADIL : Agence départementale d'information sur le logement
ANAH : Agence nationale pour l'amélioration de l'habitat
ARS – DT : délégation territoriales des agences régionales de santé
CAF : Caisse d'allocation familiale
DDT : Direction départementale du territoire
MSA : Mutualité sociale agricole
SCHS : Service communal d'hygiène et santé

Figure 36 : Différentes notion d'habitat dégradé, responsabilité, textes réglementaires et principaux acteurs pouvant intervenir

[37] Schéma adapté des propositions faites dans le guide des ARS de la Drôme (ARS, 2013)

De multiples acteurs ayant soit un niveau local ou national ressortent dans ces différents dispositifs.

Les grandes lignes d'intervention des services préfectoraux, de services déconcentrés de l'Etat ou de services municipaux sont décrites en Annexe 16 et illustrées sur la Figure 37. L'organisation entre les différents acteurs, chacun ayant un domaine d'intervention qui repose sur des plans et programmes spécifiques, est complexe. La coordination globale représente un enjeu majeur pour l'opérationnalité de la lutte contre l'habitat dégradé dont les principales étapes sont représentés sur le schéma suivant proposé par l'ARS Rhône-Alpes.

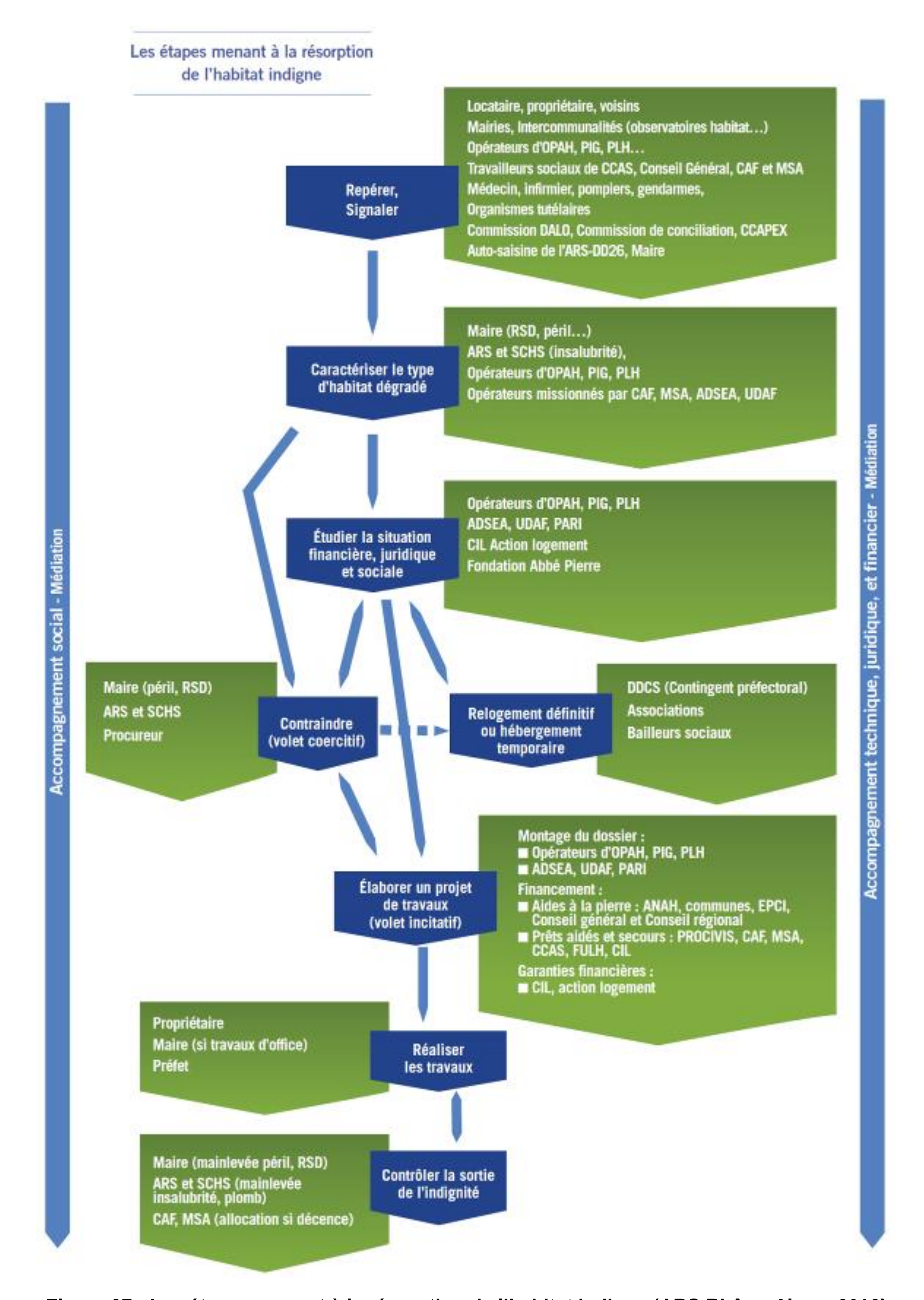


Figure 37 : Les étapes menant à la résorption de l'habitat indigne (ARS Rhône-Alpes, 2013)

7.1.2 A l'étranger

Dans la plupart des pays européens il existe des réglementations, des valeurs guides, des programmes d'actions et des stratégies d'information concernant la qualité de l'air intérieur. Lorsqu'il existe une réglementation sur l'environnement intérieur des bâtiments, qu'il s'agisse de logements, établissements scolaires ou de lieux de travail, cette réglementation concerne essentiellement la température et l'humidité, la ventilation, les moisissures, les émissions toxiques, le radon, l'efficacité énergétique, les systèmes de climatisation. Selon OMS/Europe (2010) les actions et réglementations visent généralement une seule thématique (ventilation, matériaux toxiques, radon, moisissures…), plutôt qu'une stratégie plus globale d'amélioration de l'air intérieur.

Un rapport réalisant une revue du contexte législatif et réglementaire des pays européen a été publié par l'OMS Europe en 2010 (OMS, 2010). Dans ce rapport il apparait que l'arsenal juridique mis en place dans la plupart des pays pour faire face à la problématique d'humidité et de moisissures dans les logements et les lieux fortement fréquentés (écoles, lieux de travail notamment) est composé de deux dimensions complémentaires : la prévention et la remédiation. Le rapport souligne aussi que cette réglementation apparaît souvent vague et peu efficace.

Une étude comparative de la réglementation européenne (Franci, 2004) indique que trois pays nordiques (Finlande, Norvège et Suède) ont, au début des années 2000, un contexte réglementaire avancé sur la qualité de l'air et de l'environnement intérieur des logements (Tableau 29)

Tableau 29 : Réglementations, valeurs guides et actions concernant la qualité de l'air des logements dans des pays européens (Franci, 2004)

European Countries	Laws/Guidelines			Actions
	General	Specific	Target Values	
Austria	*	*		*
Belgium	*			
Bulgaria	*			*
Czech Republic	*			*
Denmark	*			*
Estonia		*		
Finland	*	*	*	*
France	*			*
Germany	*		*	*
Italy	*	*		*
The Netherlands	*			*
Norway	*	*	*	*
Poland		*		
Portugal	*			*
Spain				*
Sweden	*	*	*	*
United Kingdom	*			*

Dans la suite du texte des exemples nationaux, surtout des pays nordiques, serviront à illustrer les caractéristiques réglementaires et les modes d'intervention existants.

Les moisissures et l'humidité dans les textes législatifs

En Suède la réglementation portant spécifiquement sur les moisissures et l'humidité des logements et lieux à forte fréquentation est intégrée dans le code de la planification et de la construction et dans le code de l'environnement, mais apparait également dans le code de l'environnement de travail et dans le code scolaire. Le code de la planification et de la construction définit les exigences des fonctions des bâtiments et des matériaux lors de la construction et

contraint le propriétaire à maintenir ces caractéristiques lors de l'exploitation du bâtiment. En 2006, une loi rend obligatoire une déclaration énergétique et des contrôles effectués sur la qualité de l'environnement intérieur des bâtiments/logements avant la vente, la location ou la rénovation et après la construction. Selon ce texte, outre l'information sur la consommation et l'efficacité énergétique du bâtiment/logement, des déclarations effectuées par des inspecteurs certifiés (Encadré 1) sont obligatoires : mesures de la concentration de radon, date et résultat du dernier contrôle du système de ventilation. Le contrôle du système de ventilation est à réaliser tous les 3 ans. Ces informations déclaratives sont rassemblées dans une base de données nationale permettant un suivi des bâtiments et des logements du pays.

Encadré 1 : Précisions sur le contrôle de la ventilation

Un contrôle par un inspecteur certifié

Les contrôles des systèmes de ventilation doivent être effectués régulièrement dans tous les bâtiments.

Le propriétaire du bâtiment est responsable du contrôle et doit choisir un contrôleur accrédité par un organisme de certification pour effectuer la vérification.

Information des résultats

A chaque inspection le contrôleur établit un rapport des résultats qui est transmis au propriétaire (qui doit l'afficher dans le bâtiment au vu de tous les habitants et usagers) et au service municipal de la planification et de la construction.

Correction des défauts et des lacunes immédiatement

Le propriétaire du bâtiment doit veiller à ce que les erreurs et omissions découvertes lors de l'inspection soient remédiées immédiatement.

Contrôle par le service municipal de la planification et de la construction

Le service municipal de la planification et de la construction vérifie que les corrections demandées aient bien été exécutées par le propriétaire.

Les principes généraux du code de l'environnement suédois soulignent que les caractéristiques des bâtiments/logements ou leur utilisation ne doit pas dégrader l'état de santé des occupants/résidents. La dégradation de la santé humaine se réfère à un trouble qui, selon une évaluation médicale, affecte la santé physique ou mentale et qui n'est pas mineur ou temporaire. La prévention doit passer par l'élimination d'inconvénients de type humidité, moisissures, odeurs et polluants de l'air dans l'environnement intérieur qui sont suspectés à l'origine de la dégradation de la santé. Le code de l'environnement suédois précise également que lors d'une évaluation des nuisances liées à l'environnement intérieur, il doit être tenu compte des personnes allergiques et des enfants, vivant ou fréquentant le lieux contaminé, qui sont légèrement plus sensibles que la normale.

Dès 1987, le code de l'environnement suédois précise que le service municipal de l'environnement et de santé (Kommunens miljö- och hälsoskyddsnämnd) est l'autorité compétente qui est chargée de vérifier le respect du code de l'environnement concernant la qualité de l'air intérieur dans les immeubles résidentiels et dans les bâtiments publics à haute fréquentation. Ce service doit allouer des ressources suffisantes pour la surveillance et disposer d'un personnel ayant les compétences nécessaires ou faire appel à des experts extérieurs certifiés. C'est aussi ce service qui a la possibilité d'intervenir en exigeant un contrôle technique et des mesures de remédiation si un ou plusieurs de ces problèmes ont été signalés à la mairie pour un bâtiment :

- humidité visible, décoloration ou des bulles dans le tapis et papier peint,
- condensation importante sur les fenêtres à l'intérieur à une température extérieure de -5° C ou moins,
- la valeur moyenne de l'humidité relative de l'air dépasse 45% à 21°C,

- s'il y a des raisons de craindre la croissance des micro-organismes dans les zones difficiles à atteindre un examen dans la structure du bâtiment peut être exigé,
- si le désagrément semble représenter un risque pour la santé, qui n'est ni mineur ou ni temporaire.

La législation suédoise sera prochainement complétée par la mise en place d'une inspection et d'une déclaration obligatoire par un expert certifié du niveau d'humidité et de la présence de moisissures dans le logement lors de transactions immobilières de maisons individuelles et d'appartements. Cette formalité existe déjà dans certains pays comme le Danemark par exemple.

La législation **en Finlande** ressemble fortement à celle de la Suède, mais la règlementation sur l'humidité et les moisissures est principalement intégrée dans les codes de l'utilisation du sol et de la construction et le code de la protection de la santé.

Selon le code la protection de la santé, le service municipal de protection de la santé a la possibilité d'intervenir et d'évaluer les risques sanitaires si un logement ou un bâtiment public est suspecté d'avoir des conséquences négatives sur la santé des occupants/usagers. Ce service peut ensuite imposer des mesures de remédiation au propriétaire.

Or, malgré la mise en place d'un cadre réglementaire parmi les plus avancés en Europe, une augmentation des logements et des bâtiments affectés par l'humidité et les moisissures est observée (Finska riksdagen, 2013). Les mesures prises au cours de la dernière décennie n'ont pas eu l'effet global escompté sur les effets sanitaires attribués à l'humidité et aux moisissures dans l'environnement intérieur. La qualité des constructions et des travaux de réhabilitation n'a pas été améliorée sur cette période, ni la qualité de l'entretien des bâtiments et des logements (Finska regeringen, 2014). Les principales raisons de l'échec des politiques sont que les travaux de remédiation imposés ou recommandés n'ont pas été réalisés ou ont été mis en place trop tardivement, voire ont été mal fait avec pour effet un retour très rapide des moisissures (Finska riksdagen, 2013). De fait, l'humidité et les moisissures des logements sont à l'origine de centaines de litiges en Finlande chaque année et le nombre semble augmenter (Finska riksdagen, 2013). Ces affaires civiles sont souvent compliquées, coûteuses et de longue durée et constituent une charge de travail croissante pour les autorités, qui demandent une amélioration de la situation.

Ces constats ont amené, en 2010, la Finlande à mettre en place une stratégie spécifique aux moisissures et l'humidité, ayant pour objectif d'améliorer la législation et les procédures et permettre d'aboutir à des logements et des établissements scolaires et des lieux de travail sains.

Pour cela plusieurs changements significatifs ont été prévus. D'abord un renforcement de l'exigence des compétences parmi les professionnels de l'architecture et du bâti pour réduire les risques d'humidité et de moisissures liés à la conception, la construction et la réhabilitation du bâti. Plus précisément des formations spécifiques et des certifications homologuées au niveau national pour les individus sont prévues. Des certifications sont prévues pour différents corps de métiers qui interviennent sur les questions de moisissures et d'humidité dans l'environnement intérieur : les experts qui évaluent les conditions sanitaires des logements et des bâtiments ; les professionnels du bâti qui font de la réhabilitation liée à des problèmes d'humidité et de moisissures ; les inspecteurs qui contrôlent la qualité des travaux de remédiation.

Signalement des problèmes - démarche administrative, responsabilités et expertise

Dans beaucoup de pays, comme la Suède, la Finlande, le Danemark, la responsabilité du signalement d'un problème lié à l'environnement intérieur appartient aux locataires et aux usagers d'un bâtiment.

En Suède, la démarche est normalisée et est la même dans l'ensemble des 290 collectivités locales (communes) qui ont la compétence d'intervenir sur ces questions.

La plainte est déposée par le locataire ou l'usager via un formulaire standardisé en ligne sur le site de la mairie (4 pages de questions fermées et ouvertes). Le service municipal de l'environnement et de santé informe le propriétaire par lettre au sujet de la plainte. Il est demandé au propriétaire

de répondre à la plainte par lettre et faire des propositions de remèdiation. Si les plaintes persistent, le service municipal de l'environnement et de la santé effectue un contrôle par un inspecteur certifié et évalue si des mesures plus importantes sont nécessaires. Si oui, des mesures sont imposées au propriétaire par le service municipal de l'environnement et de la santé qui vérifie ensuite si les mesures demandées ont été effectuées. Si ce n'est pas le cas, des sanctions pécuniaires sont prises et l'obligation d'effectuer les travaux de rénovation persiste. En dernier recours la municipalité peut faire faire les travaux et exiger le remboursement par le propriétaire.

Une des limites de cette démarche où la responsabilité d'alerte appartient aux occupants ou aux usagers, est que dans certains cas les personnes concernées peuvent avoir des difficultés à identifier clairement les problèmes et à remplir et déposer le formulaire de plainte.

Au Danemark, la démarche de signalement est similaire. Le locataire ou l'usager peut faire une demande d'évaluation de la situation par la municipalité, qui fait effectuer le contrôle par un inspecteur certifié. Le résultat de l'inspection est associé à l'une des trois catégories suivantes, qui impliquent chacune un traitement spécifique. La première catégorie correspond à une situation de menace évidente pour la santé et la sécurité. Elle peut conduire à l'interdiction d'occuper les lieux et l'exigence d'une remédiation immédiate. Dans la deuxième catégorie on trouve les logements où il y a une contamination par moisissures, mais sans menace évidente pour la santé et la sécurité. Cette situation donne généralement lieux à des recommandations au propriétaire ou aux occupants sur la façon de traiter le problème. Lorsque la contamination par moisissures est mineure, aucune intervention ou recommandation est faite.

En Finlande ce sont les occupants, les locataires ou les propriétaires qui contactent l'inspecteur municipal s'il y a une suspicion de moisissures. Une première visite est gratuite, et l'inspecteur décide si des mesures de la présence de moisissures doivent compléter la première inspection, souvent visuelle. Ces mesures, ainsi que des contrôles supplémentaires, sont financés par le propriétaire. En effet, l'agence de protection de la santé en Finlande peut, selon la loi sur la protection de la santé, prélever une contribution financière auprès du propriétaire. Ce prélèvement est possible si le logement présente des risques sanitaires tels que définis par la loi, et que le montant couvre les mesures, l'échantillonnage, les enquêtes de santé effectués pour évaluer la présence des moisissures et le risque pour la santé des occupants/usagers.

Au Québec, l'autorité locale effectue l'inspection des locaux suite à un signalement, puis le propriétaire peut, s'il le souhaite, faire appel à des experts externes pour enquêter et remédier aux dommages de l'humidité et des moisissures. Les bailleurs publics et les établissements scolaires utilisent très souvent des experts extérieurs. Il n'y a pas de système de certification des experts au Québec et les propriétaires et les autorités locales font appel à des experts dont le niveau de compétence peut être très variable. Ce système est critiqué et une certification est demandée par de nombreux acteurs (Ministère de l'éducation, du loisir et du sport, 2014b).

Travaux de remédiation, contrôle d'efficacité et sanctions en cas de non-intervention

Dans la plupart des pays il n'y a pas de réglementation qui précise la démarche de remédiation des moisissures identifiées dans un logement ou un bâtiment fortement fréquenté (établissement scolaire, lieu de travail…). En général, les responsables de l'intervention sont les propriétaires des immeubles/bâtiments et dans certains cas les exploitants des locaux. Les maisons individuelles doivent être surveillées par les propriétaires eux-mêmes et ne relèvent pas d'une démarche administrative.

Cependant, pour accompagner les propriétaires et les professionnels du bâti plusieurs pays éditent des guides techniques sur la réhabilitation et des démarches à suivre qui ont été en partie décrits dans le chapitre 6.3.

Dans certains pays, comme au Danemark, en Finlande et en Suède, pour faciliter la remédiation, il existe des aides publics qui permettent de procéder à la rénovation ou l'assainissement d'un bâtiment, d'un logement, d'un immeuble ou d'une maison individuelle. Au Danemark, si la

contamination se situe dans la catégorie un ou deux, le propriétaire peut demander une aide financière pour la rénovation du logement ou du bâtiment ou sa démolition.

En Suède, entre 1986 et 2007 le gouvernement a mis en place une commission (la « Småskadehusnämnden ») et un fond pour subventionner les travaux de rénovation nécessaires en vue de régler les problèmes d'humidité et de moisissures des maisons individuelles, suite aux problèmes techniques (utilisation de matériaux nouveaux, des constructions et conditions de sol souvent inadaptées) fréquentes dans les constructions des années 1970 et 1980. Depuis 2008, il existe un système de réduction d'impôts pour la réparation et l'entretien de logements. Cette réduction concerne par exemple l'isolation, l'amélioration de la ventilation ou des travaux pour remédier aux problèmes d'humidité et de moisissures.

Aux Pays-Bas, une commission (la « Huurcomissie ») a le mandat d'intervenir dans le secteur locatif en baissant les loyers si une remédiation n'est pas mis en œuvre par le propriétaire.

En Suède, plusieurs démarches permettant d'aboutir à des bâtiments/logements sains sont reconnues par les autorités publiques compétentes et largement recommandées lors des constructions et des rénovations. Il existe des règles de construction recommandées aux acteurs du bâti, établies par l'Office national du logement, de la construction et de la planification. Cet organisme impose également des contrôles par un inspecteur indépendant une fois la construction terminée.

En Grande Bretagne cette inspection est faite par des experts indépendants mandatés par l'autorité administrative.

L'audition effectuée par le GT moisissures le 16 septembre 2015 sur les questions de remédiation souligne la nécessité de mettre en place une obligation de contrôle par un expert indépendant après une remédiation.

Réglementation relative à l'identification de la présence de moisissures dans l'air intérieur

Dans la cadre de la consultation internationale, la réglementation mise en place en 2013 au **Portugal** a été communiquée. Les grandes lignes de la réglementation sont synthétisées dans le Tableau 30.

Tableau 30 : Conditions réglementaires relatives à la surveillance de la contamination fongique – Décret portugais (*Diário da República, 1.ª série — N.º 235 — 4 de dezembro de 2013*)

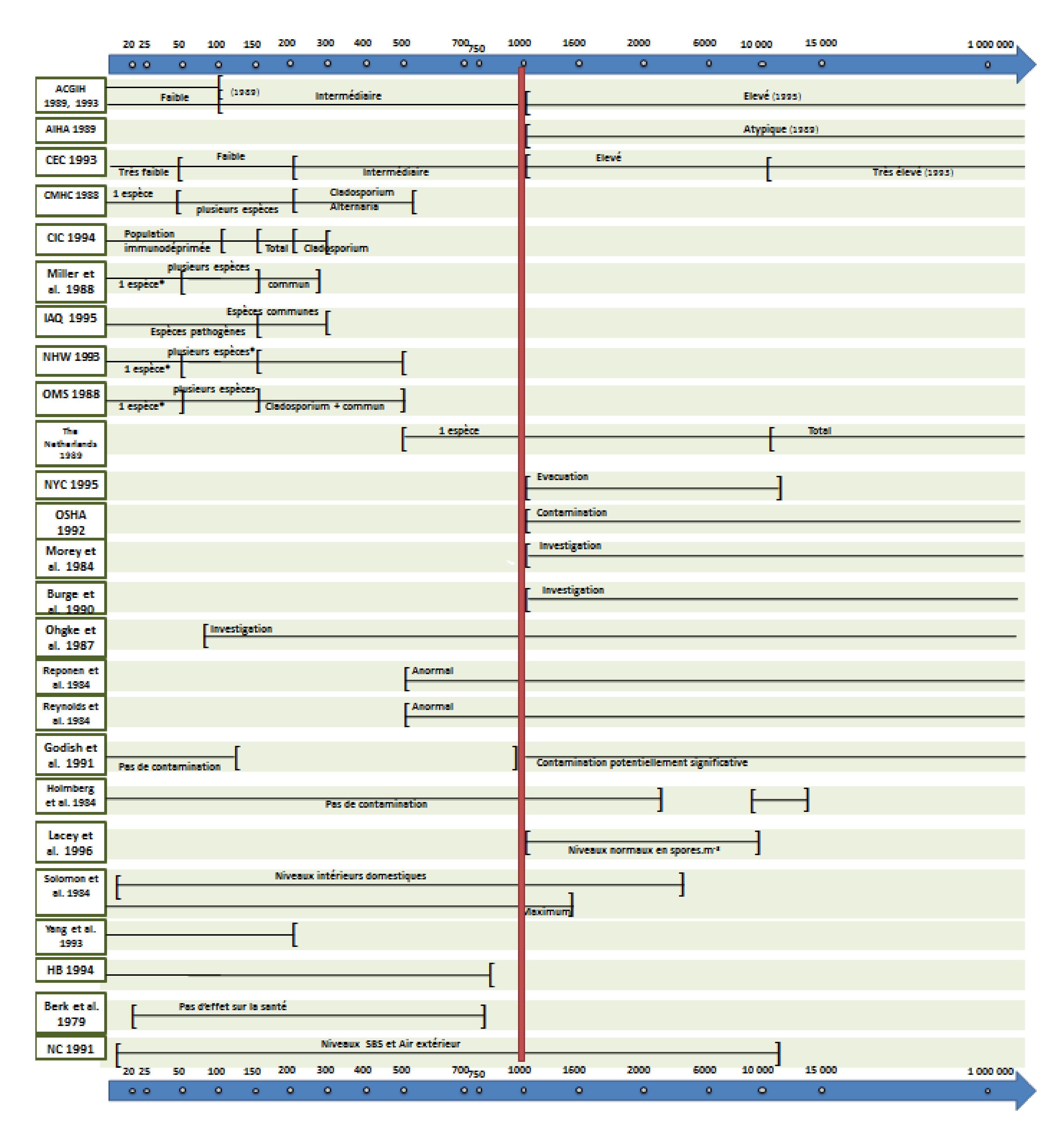
Espèces considérées		Conditions de conformité
Espèce commune (hors production toxines log)-	*Cladosporium spp* *Penicillium spp* *Aspergillus spp* *Alternaria spp* *Eurotium spp* *Paecilomyces spp* *Wallemia spp*	Espèce mélange: concentration inférieure ou égale à 500 UFC.m^{-3}
Espèces rares	*Acremonium spp* *Chrysonilia spp* *Tricothecium spp* *Curvularia spp* *Nigrospora spp*	Chaque espèce: concentration inférieure à 50 UFC.m^{-3}; Mélanges d'espèces: concentration inférieure à 150 UFC.m^{-3}
Espèces pathogènes -	*Chryptococcus neoformans* *Histoplasma capsulatum* *Blastomyces dermatitidis* *Coccidioides immitis*	Absence de toute espèce
Espèces toxiques	*Stachybotrys chartarum* *Aspergillus versicolor* *Aspergillus flavus* *Aspergillus ochraceus* *Aspergillus terreus* *Aspergillus fumigatus*	Chaque espèce: concentration inférieure à 12 UFC.m^{-3} (Diversité d'espèce par boite de gélose)

Espèces considérées		Conditions de conformité
	Aspergillus ochraceus *Aspergillus terreus* *Aspergillus fumigatus* *Fusarium moniliforme* *Fusarium culmorum* *Trichoderma viride*	

Le rapport du NEG sur les effets sanitaires liés à une exposition par voie respiratoire aux spores fongiques et spores d'actinomycètes (NEG, 2006b), synthétisé en Annexe 12, fait un état des connaissances sur la relation dose-réponse à partir des données toxicologiques et épidémiologiques. Il propose une dose la plus faible associée à un effet néfaste observé (LOAEL) de 10^5 spores.m^{-3} pour diverses espèces fongiques dans une population non sensibilisée en se basant sur des données épidémiologiques chez l'Homme (Eduard, 2009). La publication de Rao *et al.* (1996) est citée dans ce rapport. Elle recense les valeurs guides quantitatives pour les moisissures variant de 100 à 1000 UFC.m^{-3} proposées dans les années 80 et 90 par soit des organismes gouvernementaux ou institutionnels, des organisations professionnelles privées ou des experts. Ces valeurs reposent sur le recueil des données de base ou de leur expérience plutôt que sur des données de santé. Il est distingué par les auteurs deux catégories de valeurs :

- Valeur absolue spécifiant un niveau de concentration en flore totale ou pour des espèces particulières qui est soit acceptable soit non acceptable correspondant à un signe de contamination ou un domaine de concentrations dit « normales ».
- Valeur relative basée sur le rapport entre l'air intérieur et l'air extérieur nécessitant la réalisation de prélèvements simultanés. Le principe ressortant le plus des recommandations considère que des niveaux de concentrations à l'intérieur inférieurs à ceux de l'extérieur est acceptable. Dans le cas contraire, l'identification d'une source intérieure est suggérée. Une autre approche repose sur l'analyse des genres et/ou espèces.

Une synthèse des valeurs absolues recensées dans la publication de Rao *et al.* (1996) est présentée dans la Figure 38.



* Interprétation de valeurs avec astérix par souci de représentation graphique simplifiée et homogène. Par exemple la recommandation de Miller *et al.* (1988) est ≥ 50 UFC.m^{-3} pour une espèce afin de lancer des investigations, OK pour les niveaux ≤ 150 UFC.m^{-3} pour plusieurs espèces et ≤ 300 UFC.m^{-3} les espèces communes. La représentation graphique interprète la recommandation pour une espèce en pas d'investigation pour < 50 UFC.m^{-3}.

Figure 38 : Valeurs guides quantitatives exprimées en UFC.m^{-3} et recensées dans la publication de Rao *et al.* (1996)

Le niveau à 1000 UFC.m^{-3} ressort de cet état des lieux comme le niveau pouvant être qualifié d'anormal avec une contamination potentielle associée au déclenchement d'investigation. Ce niveau correspond aussi à la valeur du percentile 95 des niveaux moyens compilés à partir des données de la littérature recensées dans le cadre de cette expertise. La méthode de mesure par culture étant une méthode historique largement employée pour caractériser une contamination fongique, une analyse des données de la littérature a été proposée et est décrite en Annexe 8.1 afin de synthétiser les données de concentrations notamment en flore fongique totale.

7.2 Enseignements et difficultés du terrain

L'essentiel des éléments présentés dans cette partie provient des réponses reçues dans le cadre des consultations et des échanges tenus lors des auditions, décrits respectivement dans les parties 2.5 et 2.6.

7.2.1 En France

Evaluation de contamination

Sur le terrain, les services des ARS peuvent évaluer un problème de contamination par des moisissures dans le cadre de leur mission de lutte contre l'habitat insalubre (19 réponses positives sur les 22 questionnaires complétés dans le cadre de la consultation réalisées par l'Anses et décrites en 2.5.1 et Annexe 4). Les réponses mettent en évidence deux approches principalement mises en œuvre actuellement :

- Evaluation dans tous les cas par inspection visuelle lors de la visite du logement par un personnel de l'ARS (technicien sanitaire ou ingénieur) ou par un personnel de SCHS ou un Conseiller en environnement intérieur (CEI[38]), qui peut être complétée par le renseignement sur l'odeur de moisi. Des informations sur les surfaces contaminées (murs, plafonds, meubles, …) et les pièces concernées (une ou plusieurs pièces ou généralisée au sein du logement) ainsi que les causes probables (humidité, infiltrations, usage des lieux, sur-occupation, absence de ventilation, manque de chauffage, insuffisance d'isolation thermique, …) peuvent être recherchées.

  Cela est confirmé par l'analyse des données sur l'année 2013 de l'Enquête sur l'habitat indigne (EHI) sur la prise en compte de la présence des moisissures dans les motifs d'insalubrité représentée sur les deux figures suivantes (DIHAL, 2015). Les services étaient interrogés pour la 1ère fois sur cette question ne permettant pas de comparaison avec des données antérieures.

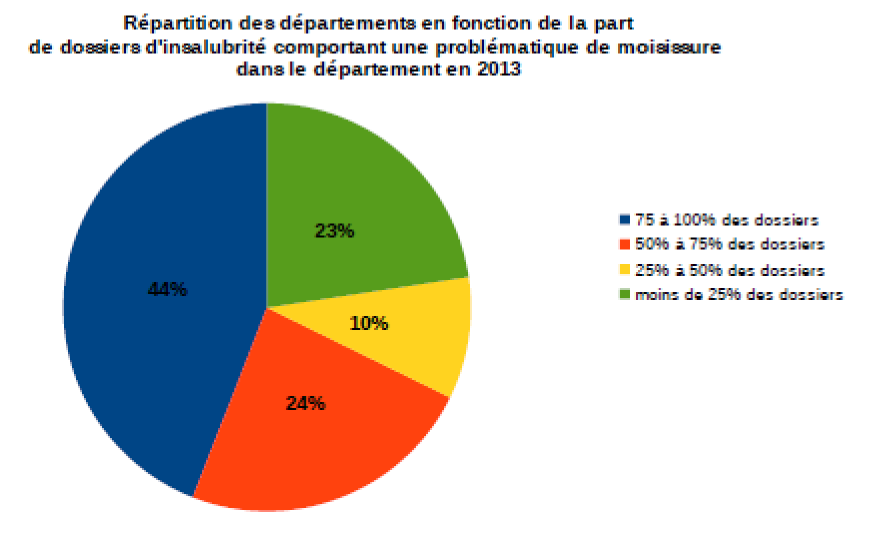


Figure 39 : Représentation de la part des dossiers d'insalubrité du département intégrant la présence des moisissures (DIHAL, 2015)

---

38 ou Conseiller médical en environnement intérieur CMEI

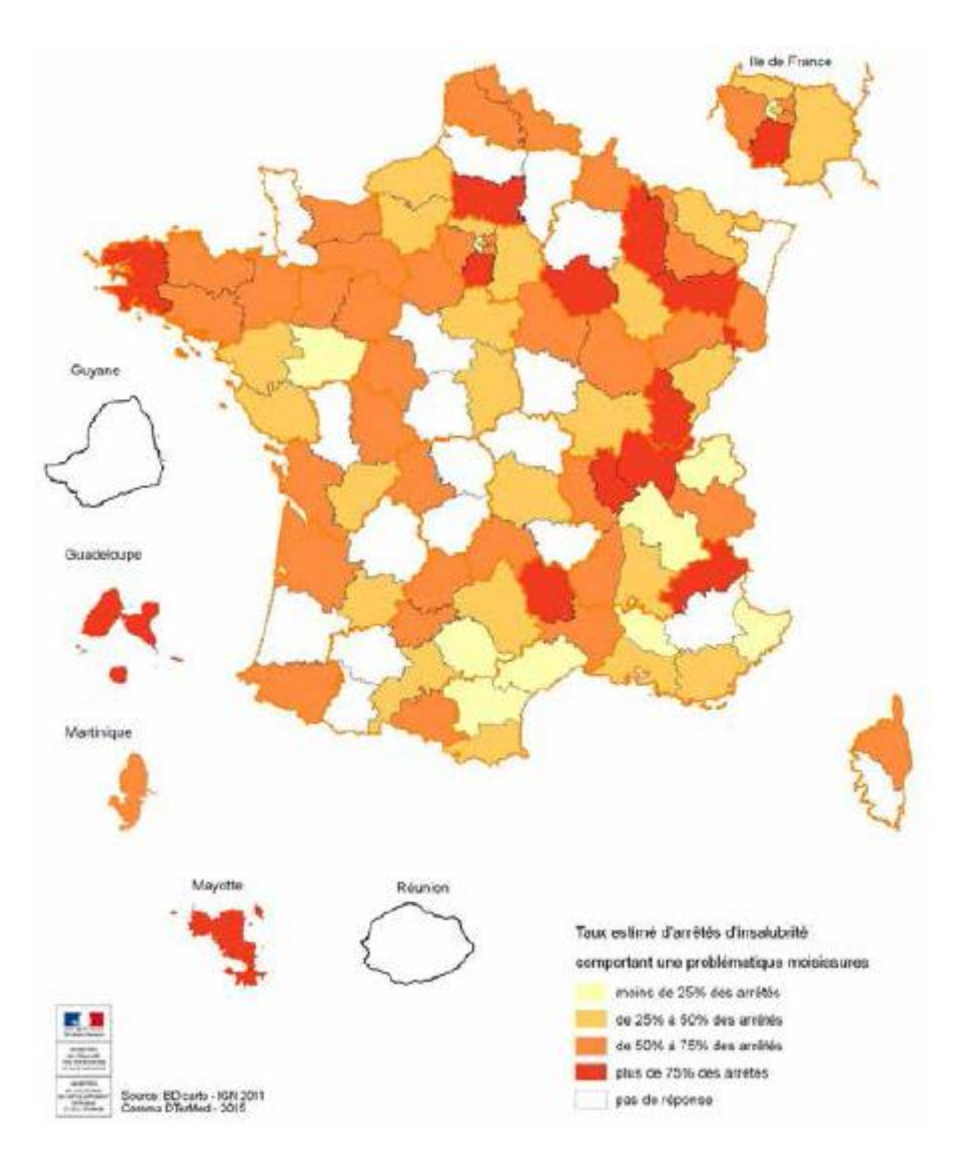


Figure 40 : Taux des arrêtés d'insalubrité intégrant la présence des moisissures dans les motifs d'insalubrité par département sur l'année 2013 (DIHAL, 2015)

La mesure de l'hygrométrie a été citée dans 2 questionnaires. Une discussion lors d'une audition a signalé des aléas rendant la mesure peu fiable. L'usage de caméra thermique pour l'identification des ponts thermiques a été rapporté lors de l'audition d'un SCHS.

- Evaluation par analyse microbiologique principalement lors de la visite du logement par le CEI est renseignée par 5 services d'ARS sur les 19 réponses positives. Ces investigations renforcées sont réalisées soit :
  - sur prescription médicale,
  - dans le cas de pathologies respiratoires repérées au préalable,
  - dans le cas d'un mauvais usage ou un défaut d'entretien du logement.

Des prélèvements en surface (scotch-test ou écouvillonnages) et/ou prélèvement d'air (bio-impacteurs) en vue d'une analyse microbiologique sont alors réalisés.

Ces évaluations des moisissures constituent en général un paramètre parmi de nombreux items pour caractériser l'insalubrité et sont donc mentionnées dans les rapports d'insalubrité[39].

---

[39] Présentés en CoDERST (Conseil départemental de l'environnement, des risques sanitaires et technologique)

La majorité des arrêtés d'insalubrité ne sont donc pas pris du fait de la présence de moisissures. En effet, les situations spectaculaires constatées par les ARS sont relativement rares et les moisissures font très rarement l'objet d'un signalement spécifique. Il est par ailleurs important de hiérarchiser les situations en fonction de l'ampleur du problème. Une disparité au niveau du territoire est constatée, avec une présence accrue d'habitats très impactés dans les métropoles. A titre d'illustration, la problématique des moisissures est retrouvée dans 80% des interventions de la CEI du LHVP.

Les sollicitations d'intervention vis-à-vis de la problématique des moisissures concernent dans un premier temps les ARS/DT d'ARS qui sont contactés par les occupants (locataires, propriétaires occupants). La sollicitation porte rarement uniquement sur des questions en lien avec les moisissures, les problèmes étant plus larges. L'objectif des visites réalisées dans le cadre des missions de lutte contre l'insalubrité est de chercher l'ensemble des désordres présents dans le logement. Une hiérarchisation des situations est faite en fonction de l'ampleur du problème. Le nombre et/ou la gravité des désordres constatés dans le logement ont été mentionnés. L'évaluation des moisissures peut être mise en perspective avec des défauts liés à la ventilation, au chauffage et à l'isolation. Certaines réponses mentionnent le caractère important ou majeur de l'évaluation des moisissures sur les dossiers de leur service. L'engagement d'une procédure d'insalubrité pour des logements dans lesquels seul un problème de moisissures apparait est rare d'après les échanges issus des auditions et des réponses aux questionnaires. L'étendue de la contamination (recouvrement des murs) et la fragilité des occupants ayant des maladies respiratoires ont été données en exemple de ces situations exceptionnelles avec la prise d'un arrêté d'urgence sur la base des articles L1311-4 ou L1331-26-1 du code de la santé publique.

L'évaluation des moisissures seule représente plutôt sur le terrain une infraction au Règlement sanitaire départementale (RSD) ou de l'indécence relevant des pouvoirs de police du Maire. Les collectivités locales sont alors des acteurs majeurs du dossier. Le fait de passer à un arrêté d'urgence est plus complexe et pose la question de prélèvements. Les travaux d'office sur un arrêté d'insalubrité sont peu fréquents. Lorsque des prélèvements sont réalisés, une réponse aux questionnaires communiqués aux ARS précise que cette évaluation permet d'appuyer la demande du patient pour prétendre à des subventions d'aides à l'amélioration de l'habitat[40].

La mobilisation des pouvoirs publics autour de la problématique des moisissures est variable en fonction des communes. Cela dépend également des ressources locales mobilisables. Les CEI ou CMEI peuvent aussi intervenir de façon complémentaire aux ARS. Les CMEI font ainsi des prélèvements de moisissures via des scotch-test ou des écouvillonnages et des bio-impacteurs pour l'analyse de l'air intérieur. Il n'est comptabilisé qu'environ 50 CMEI en France actuellement. Les travailleurs sociaux sont associés aux procédures d'insalubrité notamment par l'intermédiaire des pôles départementaux de lutte contre l'habitat indigne. Ces travailleurs se déplacent de moins en moins au domicile des gens (restrictions budgétaires, trop de dossiers par travailleur social, insécurité). Les intervenants lors des auditions soulignent pourtant que les enquêtes à domicile sont un élément important pour les procédures de relogement.

Lors des auditions, les intervenants ont souligné que la multiplication des acteurs n'est pas un obstacle du fait de leur complémentarité. Par ailleurs, même si les circuits déclaratifs sont complexes, les ARS seront contactés *in fine*. Les Agences Départementales d'information sur le Logement (ADIL) peuvent jouer un rôle important pour aiguiller les particuliers. Les caisses d'allocations familiales (CAF) peuvent également être un relais d'information.

L'étude de la situation est l'étape préalable à une action visant à remédier à une présence de moisissures. Ainsi lorsque l'ARS est sollicitée, le contexte d'habitation va être étudié de manière globale par les intervenants. Par ailleurs, la nature des causes peut être multiple comme indiqué

[40] Mention des cadres d'Opération Programmée d'Amélioration de l'Habitat (OPAH) et de Programme d'Intérêt Général (PIG), aides complémentaires aux subventions de l'ANAH

dans les chapitres précédents (caractéristique du bâti, usage fait…). L'un des principaux obstacles lorsqu'une action est entreprise pour remédier aux moisissures est le fait d'avoir une approche trop cloisonnée. La question des moisissures dans l'habitat mérite d'être intégrée dans une réflexion globale afin d'identifier les causes du désordre de l'habitat. Changer les matériaux est une solution de court terme, il est primordial de trouver la cause de la présence des moisissures. L'isolation d'un logement ne peut être déconnectée d'une réflexion sur la ventilation. Il n'est pas opportun d'avoir une approche purement énergétique. Par conséquent, la possibilité de disposer d'un schéma logique d'observation d'un logement, pourrait être une piste pour les techniciens d'ARS afin d'étudier les causes.

La DGS avec le comité français d'accréditation (Cofrac) ont mis en place une démarche d'accréditation afin d'améliorer l'organisation et de professionnaliser l'activité selon un référentiel normatif reconnu. L'accréditation repose sur un guide technique d'accréditation pour l'évaluation technique de l'état de salubrité et d'occupation des immeubles d'habitation (Cofrac, 2015[41]) associé à un référentiel technique et des grilles de synthèse d'évaluation fournis par la DGS. L'ARS Nord-Pas de Calais est accrédité dans ce domaine depuis le 1er novembre 2011. Il s'agit du seul organisme accrédité dans ce domaine. Les grilles d'évaluation ne mentionnent pas la présence de moisissures et repose uniquement sur l'aération et l'humidité.

Evaluation des remédiations

Il est constaté par les acteurs du terrain que l'absence d'une véritable ventilation est un facteur prépondérant dans le développement d'une condensation pouvant conduire au développement de moisissures. Toutefois au-delà du débit d'air, il est important que le brassage d'air dans l'environnement intérieur soit assuré ainsi que l'entretien du système de ventilation.

Prescrire ces améliorations au niveau d'un logement n'a parfois pas de sens, notamment lorsqu'il se situe dans un contexte collectif. Il faut alors raisonner à l'échelle de l'immeuble. Cependant cela est souvent complexe, implique des travaux lourds, mobilise des ressources financières et peut nécessiter l'accord de copropriétaires non-concernés.

Des stratégies sont également développées par les occupants, principalement un nettoyage régulier ou un bricolage vis-à-vis des surfaces concernées. Le nettoyage ne peut être envisagé que pour des surfaces très limitées. Par ailleurs, il est toujours recommandé de porter des équipements de protection afin de limiter l'exposition à des spores remis en suspension (masque FFP2, nettoyage avec un objet humide…). Le bricolage n'est pas une solution optimale à moyen/long terme.

Le conseil aux occupants en fonction de la situation est parfois délicat :

- Certaines situations très lourdes ne dépendent plus des occupants,
- Lorsque le défaut de chauffage est imputable à une situation financière précaire, les conseils s'avèrent inopérants,
- Lorsque le comportement des occupants est impliqué (mauvaise aération, travaux mal réalisés…) des recommandations peuvent être formulées.

Il y a un aspect intrusif qui peut être mal vécu par la famille lorsque des professionnels se déplacent au domicile. Il est nécessaire que la famille soit par conséquent impliquée dans la gestion du problème. Il faut donc mettre en place des démarches de santé coopératives. Les familles sont des acteurs de leur santé et les solutions sont à trouver ensemble.

Aujourd'hui la question du défaut de chauffage pour raison économique est au cœur de la problématique. Des chauffages d'appoint parfois utilisés peuvent accélérer le processus de développement de moisissures en augmentant l'humidité du logement (dégagement de vapeur d'eau).

[41] Document INS GTA 07 Révision 00 annulant et remplaçant le document INS REF 22

Il parait plus efficace d'agir en prévention afin de limiter la possibilité d'un développement de moisissures. Cela peut passer par des multiples canaux. En premier lieu, lors de la construction des bâtiments. En effet, les centres d'études et d'expertise sur les risques, l'environnement, la mobilité et l'aménagement (CEREMA) assurent les contrôles des règles de construction. Cela porte sur un échantillon très limité (entre 300 et 400 logements par an). Selon les bilans, la moitié des logements dans le neuf ne sont pas conformes sur la ventilation et 68% dans les maisons individuelles.

Même si les problématiques « rénovation » et « neuf » sont totalement différentes, cette difficulté dans la mise en place d'une ventilation adéquate se retrouve également lors de la mise en chantier d'un logement. L'étanchéité de l'enveloppe des bâtiments ne permet pas une extraction rapide de la vapeur d'eau développée lors des activités du chantier. Ce problème peut être limité si le chantier est pourvu d'une déshumidification et d'une ventilation correctement calibrée. Au regard de ces enjeux, l'Ademe cherche à mettre en place des actions auprès des professionnels sur la ventilation notamment.

Il est constaté par les acteurs de terrain, un désintérêt des architectes et des bureaux d'études pour ces lots techniques, centraux dans la prévention du développement de moisissures. Par ailleurs lorsqu'il est nécessaire d'entreprendre des actions de remédiation, les professionnels compétents sur la thématique des moisissures ne sont pas nombreux. Il apparait clairement que les interventions par les entreprises du bâti peuvent avoir pour effet de faire disparaitre les moisissures que sur le court terme. La santé des travailleurs mobilisés sur ce type de chantier doit également être protégée.

7.2.2 A l'étranger

<u>*Evaluation de contamination*</u>

Dans la plupart des pays, l'évaluation de la présence de moisissures est faite dans un premier temps par une inspection visuelle et parfois olfactive. Souvent, des mesures complémentaires sont effectuées pour évaluer la concentration de spores dans l'air ou la présence de moisissures dans les structures non visibles du bâtiment.

Les réponses reçues lors de la consultation internationale, décrite dans le chapitre 2.5.2, font ressortir deux démarches distinctes concernant la caractérisation d'une contamination par des moisissures :

- La réalisation de prélèvement et d'analyse par culture en lien avec des documents guides ou méthodologies permettant d'harmoniser les pratiques de cette méthode historiquement utilisée pour identifier et quantifier les moisissures.

  Les pays concernés sont la Norvège (FHI, 2013), l'Allemagne (VDI, 2008), l'Italie (ISS, 2013), le Portugal (décret 535-A/2013) et la Finlande[42]. L'agence fédérale pour l'environnement allemande (UBA) a précisé que les normes nationales ont été la base des travaux de normalisation à l'ISO[43].

- La proposition de recommandations de prévention et de remédiation des problèmes de développement des moisissures plutôt que la réalisation de mesures.

  Six organismes (INSPQ, CDC, SWESIAQ, OMS, EPA, RIVM) sur les quatorze ayant répondu à la consultation internationale ont explicité qu'ils ne recommandent pas la réalisation de mesures. L'OMS a publié un rapport sur les méthodes pour la surveillance de la qualité de l'air intérieur dans les écoles conseillant l'évaluation de la présence d'humidité

---

[42] Publication dans un journal finlandais *Ympäristö ja Terveys* (Environnement et Santé) d'un guide en finlandais du Ministère de la santé et des affaires sociales - guidebook for Healthy housing

[43] ISO 146/SC 6 /WG10.

et des moisissures par observation visuelle (OMS, 2011b). L'INSPQ précise toutefois que si cette mesure dans l'air intérieur est réalisée, une comparaison des niveaux et des espèces avec celles de l'air extérieur est recommandée (INSPQ, 2002). Il a aussi été mentionné la réalisation en cours d'un guide d'interprétation des investigations fongiques.

Des guides établis par des organismes reconnus et pouvant offrir des règles susceptibles d'encadrer certaines pratiques existent pour faciliter l'évaluation de la contamination et dans certains cas du risque sanitaire associé. La consultation internationale et l'analyse de guides a permis d'identifier une grande variété de référentiels (Tableau 31).

Les organismes ont aussi communiqués des documents guides ou pages de site internet fournissant des informations sur le développement des moisissures et les actions possibles (OMS, 2009 ; Santé canada, 2007 ; EPA, 2010 ; IICRC, 2015 ; SWESIAQ, 2014 ; CDC, 2014).

Des pages internet d'informations destinées aux particuliers ou responsables de bâtiments sont développées depuis de nombreuses années par les organismes institutionnels nord-américains. Elles sont spécifiques sur les moisissures dans le bâti notamment avec des articles dédiés ou le téléchargement des guides recommandant les démarches de prévention.

Tableau 31: Référentiels et guides d'identification de la présence de moisissures dans l'air intérieur

Pays	Référentiels et guides
Allemagne – UBA Portugal – Ministère de la santé	VDI 4300-10 Normes ISO 16000-16 à 21 + EN 13098
Finlande - THL	Guides du ministère chargé de la santé prochainement appliqués par voie réglementaire. A venir, une norme pour la mesure par qPCR
Italie – ISS	Rapport ISTISAN Normes EN ISO 14698-1 et-2 (chambres blanches)
Norvège - FHI	Directive pour la qualité de l'air intérieur – valeurs guides (2013)
Suède – SWESIAQ	Recommandations pour l'investigation de contamination par des moisissures Prévention et remédiation (SWESIAQ, 2014)
Europe – WHO	Méthodologie pour évaluer la présence d'humidité et des moisissures dans les écoles - observation visuelle (OMS, 2011b)
Canada – INSPQ	Méthode analytique 343 - IRSST - Guide d'échantillonnage des contaminants de l'air en milieu de travail. Prélèvement par Éponge stérile. Analyse Microscopie et chromatographie en phase gazeuse
ASTM International	ASTM D7338 – 10. Standard Guide for Assessment of Fungal Growth in Buildings de l'ASTM International (auparavant l'American Society for Testing and Materials).

Source : Consultation internationale du GT Moisissures ANSES décrit dans le chapitre 2.5.2 et Ministère de l'éducation, du loisir et du sport (2014b)

En Finlande, selon le code la protection de la santé, le service municipal peut faire appel à un expert externe pour effectuer des mesures ou évaluer la contamination d'un logement ou d'un bâtiment par des moisissures. Cet personne doit nécessairement posséder l'expertise et la compétence adéquate et doit pouvoir prouver la fiabilité des méthodes utilisées pour évaluer la présence de moisissures dans un bâtiment ou logement.

<u>Conséquences économiques pour la société</u>

La présence d'humidité et de moisissures dans l'environnement intérieur ont des conséquences très importantes pour la société et pour l'économie globale d'un pays. Ces coûts ont plusieurs

dimensions. Ils sont liés aux problèmes de santé : examens médicaux, traitements des troubles et pathologies, absentéisme, perte de la capacité de travail ou efficacité réduite au travail. Ils concernent aussi les propriétaires immobiliers publics et privés qui sont responsables de la réhabilitation du bâti dégradé dont les coûts sont élevés en cas d'entretien non réguliers. Enfin, les coûts de gestion des dossiers, des investigations par les pouvoirs publics et des litiges traités dans les tribunaux doivent également être pris en compte. Malgré cela, peu de travaux s'intéressent aux effets économiques globaux de la contamination fongique dans les logements, les bâtiments publics et sur les lieux de travail.

Mudarri & Fisk (2007) ont, à partir d'une revue de la littérature, analysé l'amplitude des conséquences économiques de la présence d'humidité et de moisissures dans les environnements intérieurs aux Etats-Unis. A partir des travaux analysés, les auteurs estiment que 21,8 millions de personnes ont de l'asthme aux Etats-Unis, et qu'entre 2,7 et 6,3 millions des cas sont attribuables à l'exposition à l'humidité et aux moisissures dans l'environnement intérieur. L'humidité et les moisissures seraient donc responsables de 12 à 29% des cas d'asthme, ce qui, toujours selon les estimations des auteurs, correspond à un coût annuel pour le pays de 2,1 à 4,8 milliards de dollars (entre 0,14 et 0,33% du produit intérieur brut (PIB) des Etats-Unis en 2007).

En Finlande, où le problème des moisissures est considéré comme étant très important, des travaux ont été conduits pour estimer les coûts, pour la société, liés à la présence de moisissures dans l'air intérieur. Selon le comité exécutif du parlement finlandais, les conséquences économiques des moisissures sont bien plus importantes que celles attendues par les acteurs concernés (Finska Riksdagen, 2013). En 2013, ce comité souligne que des économies très substantielles pourraient être faites en agissant en priorité sur la prévention et la remédiation. En 2015, le comité exécutif de l'environnement finlandais estime que 7 à 10% des maisons individuelles et 6 à 9% des logements dans des immeubles collectifs ont des dégâts préoccupants d'humidité et de moisissures (Miljöutskottet, 2015**)**. Les bâtiments appartenant aux collectivités territoriales sont encore plus atteints par des problèmes d'humidité et de moisissures, puisque environ un cinquième des surfaces au sol des établissements scolaires et des crèches et un quart des établissements de soins ont des dégâts sévères. On estime que 750 000 finlandais sont exposés aux moisissures quotidiennement (Miljöutskottet, 2015**)**, ce qui correspond à 14% de la population total du pays.

Les coûts pour la société des problèmes de santé liés aux dégâts d'humidité et d'exposition aux moisissures en Finlande sont estimés à 450 millions d'euros par an (Finska Regeringen, 2014), ce qui correspond à 0,17% du PIB du pays en 2014. Ce résultat est concordant avec celui de Mudarri et Fisk (2007) concernant les conséquences économiques des cas d'asthme attribuables à l'humidité et aux moisissures dans le bâti aux Etats-Unis.

A ce coût lié à la santé, il faut également ajouter le coût de la réhabilitation de bâtiments non entretenus de façon continue (système de ventilation, réparation de dégâts des eaux…). Selon le comité exécutif du parlement (Finska Riksdagen, 2013) le coût pour réhabiliter l'immobilier public géré par les communes suite à des problèmes d'humidité et de moisissures s'élève à 5 milliards d'euros (1,9 % du PIB de la Finlande en 2013).

En Suède, un des objectifs environnementaux nationaux fixés pour 2020 est que l'humidité ne doit pas induire des problèmes dans les environnements intérieurs et favoriser l'apparition des moisissures, des bactéries ou des émissions chimiques des matériaux. Pour cela, l'objectif est d'atteindre un part de bâtiments avec des dommages liés à l'humidité inférieur à 5% de l'ensemble du parc en 2020 (en 2010 cette part correspond à 20%). Le Conseil national du logement, du bâtiment et de la planification suédois (Boverket) (2010) estime que le coût global pour atteindre cet objectif se situe entre 8 et 10 milliards d'euros (estimation en fonction des prix de 2008), ce qui correspond à 16 à 20% du PIB du pays en 2007.

Evaluation de la remédiation

Les publications relatives à l'évaluation des interventions visant à agir sur les moisissures dans le bâti sont peu nombreuses. La revue de la littérature réalisée dans le cadre de ce rapport a recensé ***10 études interventionnelles*** dont deux reposant sur la mise en place d'un traitement médicamenteux (Ezra, 2011 ; Shoemaker, 2006) et 8 avec des interventions sur la bâti. Elles sont synthétisées en Annexe 17. Dans ces études, peu font un focus exclusivement sur les moisissures et par conséquent répondent à la problématique de cette expertise. Ces études indiquent que les symptômes de santé diminuent après intervention.

Dans une revue Cochrane, Sauni *et al.* (2015) signalent que les études épidémiologiques se heurtent à une difficulté majeure : Le choix de l'échantillon des bâtiments à étudier est délicat car les dommages se produisent généralement dans les bâtiments isolés. Il est alors difficile de réunir suffisamment de bâtiments. Ces auteurs ont cherché à déterminer l'efficacité de la remédiation des bâtiments endommagés par l'humidité ou les moisissures, de façon à prévenir ou diminuer les symptômes respiratoires, les infections ou l'asthme. Douze études randomisées contrôlées ont été analysées, avec des designs différents pour la plupart d'entre elles. La remédiation consistait en un nettoyage simple à une rénovation complète. Dans les rénovations, la réparation des causes de dégâts des eaux, le remplacement des matériaux endommagés par des neufs ou le séchage des matériaux de construction ainsi que l'amélioration de la ventilation ont été pris en compte si un changement sur l'humidité ou les moisissures étaient renseignés. L'analyse poolée des données faite dans la revue cochrane de deux études (considérées de qualité modérée) chez les adultes (Burr 2007 ; Howden-Chapman, 2007) montrent que la remédiation des maisons diminue les symptômes asthmatiformes, comme le sifflement (OR=0,64 ; $CI_{95\%}$ [0,55-0,75]) et les infections respiratoires, notamment la rhinite (OR=0,57 ; $CI_{95\%}$ [0,49-0,66]). Les autres études n'apportent pas de démonstration évidente. Il n'existe qu'une évidence modérée que la remédiation des maisons humides ou moisies diminue les symptômes asthmatiformes et les infections respiratoires chez l'adulte, par rapport à l'absence d'intervention.

Une seule étude (Burr, 2007) sur les 12 de la revue de Sauni *et al.* (2015) est commune avec les 10 études interventionnelles ressortant de la revue de la littérature réalisée dans le cadre de cette expertise.

D'autres études randomisées sont encore nécessaires pour démonter l'intérêt de cette remédiation, avec des marqueurs de santé bien déterminés au préalable et un design de type cluster. Palomäki *et al.* (2008) s'appuient sur une synthèse de la littérature ainsi que leurs expériences personnelles afin d'établir une démarche pertinente d'évaluation de l'efficacité d'une remédiation reposant sur 5 étapes :

1. Inspection et surveillance de l'humidité
2. Planification de la remédiation
3. Mise en œuvre de la remédiation
4. Nettoyage après remédiation
5. Suivi

En élargissant au-delà des moisissures, les solutions prônées pour réduire la présence d'allergènes dans le bâti invitent à adopter une démarche globale au-delà des méthodes mobilisant des procédés chimiques ou physiques. Il est nécessaire de comprendre la situation (Gotzsche & Johansen 2008).

7.3 Conclusion

Au niveau international, il existe dans certains pays un cadre réglementaire et des orientations de politiques publiques permettant en partie de faire face à l'humidité et à la présence de moisissures dans les environnements intérieurs. Les exemples des pays nordiques étudiés sont riches d'enseignements illustrant les caractéristiques réglementaires et les modes d'intervention possibles. Par exemple, la Suède a rendu obligatoire le contrôle de la ventilation tous les 3 ans depuis 2006 et projette la mise en place d'une inspection et d'une déclaration obligatoire par un expert certifié du niveau d'humidité et de la présence de moisissures dans le logement lors des transactions immobilières.

Pour la caractérisation de la contamination des logements par des moisissures, deux démarches se distinguent à l'international : la première reposant sur la réalisation de prélèvement et d'analyse par culture, et la seconde sur la prévention et la remédiation des problèmes de développement des moisissures sans réalisation de mesures.

Dans le premier cas, le Portugal a également mis en place en 2013 une réglementation relative à l'identification de la présence de moisissures dans l'air intérieur dont la conformité repose sur des niveaux de concentration à respecter en fonction des espèces considérées. Des valeurs guides pour les moisissures variant de 100 à 1000 UFC.m^{-3} ont été proposées dans les années 80 et 90 soit par des organismes gouvernementaux ou institutionnels, soit par des organisations professionnelles privées ou des experts. La concentration dans l'air intérieur en flore totale de 1000 UFC.m^{-3} ressort comme une concentration pouvant être qualifiée d'anormale avec une contamination potentielle qui est associée au déclenchement d'investigation. Ce niveau correspond aussi à la valeur du percentile 95 des niveaux moyens compilés à partir des données de la littérature suite à des prélèvements d'air par impaction et analyse par culture recensées dans le cadre de cette expertise.

Lorsque la réalisation de mesure n'est pas recommandée, des guides fournissent des préconisations ou règles susceptibles d'aider à l'évaluation et à la remédiation de la contamination. Différents niveaux de surfaces moisies ont été également proposés et associés à la mise en œuvre de mesures de remédiation. Pour les référentiels de l'OMS, du Canada, et de la ville de New York, 3 niveaux sont proposés, avec, pour le niveau faible, une surface maximale comprise entre 0,3 et 1m², et pour le niveau le plus élevé une surface de 3 à 9,3 m². Dans le rapport du CSHPF publié en 2006, les niveaux proposés sont similaires à ceux de l'OMS, avec un niveau faible supplémentaire (<0,03 m² soit environ ½ feuille A4).

En France, la règlementation est axée sur la gestion globale de l'habitat sans exigence spécifique concernant la contamination par des moisissures. Différentes notions d'habitat sont définies par la réglementation : habitat insalubre, indigne et indécent. Ces notions ont été élaborées dans des objectifs distincts et impliquent des responsables et acteurs différents. C'est un domaine complexe, avec de nombreux acteurs impliqués et les responsabilités sont souvent mal définies et associées à des difficultés de travail en commun et d'échanges entre les acteurs sur un même territoire.

D'après les retours du terrain, dans le cadre des missions de lutte contre l'habitat insalubre, une évaluation d'un problème de contamination par des moisissures est réalisée principalement par une inspection visuelle lors de la visite d'un logement par un personnel de l'ARS (technicien sanitaire ou ingénieur) ou par un personnel de SCHS ou un Conseiller en environnement intérieur (CEI), et constitue en général un paramètre parmi de nombreux items pour caractériser l'insalubrité. Une action complémentaire est mise en œuvre dans quelques régions françaises associant les acteurs publics et des conseillers (Conseiller en environnement intérieur/ Conseiller Habitat Santé) pour l'évaluation des logements. Ainsi, les conseillers peuvent réaliser des prélèvements de moisissures via des scotch-test ou des écouvillonnages sur les surfaces moisies, et des bio-impacteurs pour l'analyse de l'air intérieur.

Les compétences des professionnels chargés d'évaluer la contamination fongique dans l'habitat sont souvent considérées hétérogènes et/ou insuffisantes ; une définition et une harmonisation des qualifications requises sont nécessaires.

Les travaux de remédiation d'humidité et de moisissures échouent régulièrement par manque de formation des professionnels du bâti dans ce domaine et du fait de l'incapacité ou de la réticence des propriétaires à consacrer ou investir les moyens financiers nécessaires.

D'une manière générale, le niveau de connaissances vis-à-vis de la problématique des moisissures des différents acteurs professionnels impliqués dans la prévention du développement de contaminations fongiques (domaines de la construction, de la rénovation et de la remédiation) et/ou dans la prise en charge des risques pour les populations exposées (professionnels de santé, acteurs sociaux pour le signalement ; professionnels chargés d'apprécier la contamination fongique du bâti) est un facteur clé pour la réduction de l'exposition aux moisissures et des effets sanitaires associés.

8 Conclusions et recommandations

■ Conclusions du groupe de travail

Concernant la caractérisation des expositions aux moisissures :

Le terme « moisissures » fait référence dans le langage courant aux taches apparaissant entre autres sur les aliments ou dans l'habitat, correspondant à un stade avancé de développement de moisissures qui sont des champignons microscopiques. Des conditions favorables sont nécessaires pour leur développement dans les environnements intérieurs, notamment la présence d'humidité dans différents éléments du bâti (les cloisons, la matière isolante, les faux plafonds,…) de natures différentes (carton, papier, tissu…).

Il existe une très grande variété d'espèces fongiques (probablement plusieurs millions) qui se développent dans différentes conditions. Les moisissures produisent des structures de reproduction appelées spores ou conidies qui une fois libérées, se retrouvent principalement en suspension dans l'air et assurent la dispersion des moisissures. En mycologie, le mode de production des spores, observé directement au microscope, est le principal élément d'identification des genres et espèces fongiques. Les moisissures sont aussi capables de synthétiser des substances chimiques (mycotoxines, composés organiques volatils microbiens (COV_m)) qui sont contenues dans les spores ou libérées directement dans l'air.

De nombreuses méthodes qualitatives ont été identifiées afin d'évaluer la contamination par les moisissures, que ce soit à visée de gestion ou de recherches, et incluent l'étendue de surface, l'odeur de moisi, l'humidité, des indices de contamination basés sur les émissions de COV ainsi qu'une multitude de méthodes de mesure quantitatives tant en terme de prélèvement (surface, air, poussières, matériaux) que d'analyse. Elles peuvent cibler aussi bien le champignon lui-même, que ses composants ou les substances émises. Cette multiplicité reflète la complexité de l'exposition et représente une limite majeure pour leur standardisation et leur validation, ainsi que pour la détermination de seuils en vue de prévenir la survenue d'effets sanitaires.

La réalisation de prélèvements d'air, de surface et de matériaux a récemment fait l'objet de normes internationales reprises au niveau national. Concernant les systèmes de prélèvement d'air, peu de changements ont été constatés sur les 10 dernières années selon la littérature ; les systèmes par impaction en milieu solide sont les plus utilisés mais reposent sur des durées d'échantillonnage courtes. De nouveaux appareils reposant notamment sur la collecte des spores en milieu liquide ont été proposés ces dernières années et permettent à la fois la réalisation de prélèvements sur un pas de temps plus long et une récupération directe de l'échantillon liquide autorisant une diversité d'analyse en aval. Les systèmes de prélèvements de surfaces ou de matériaux (adhésif, boîte « contact », écouvillon) n'ont pas évolué et se limitent à une caractérisation des zones prélevées.

Concernant les prélèvements de poussières, des capteurs électrostatiques basés sur le recueil de poussières par sédimentation passive sont venus compléter les dispositifs préexistants de prélèvement des poussières par aspiration. Il s'agit d'un système de prélèvement simple à mettre en place sur le terrain sur de longues durées et peu coûteux. Cependant il n'y a pas assez de données disponibles permettant d'interpréter les résultats et le dispositif doit faire l'objet d'une évaluation complète pour validation.

L'analyse par culture, à partir de prélèvements d'air, de surfaces, de matériaux ou de poussières, est la plus utilisée et fait aussi l'objet d'une norme qui devrait d'une part permettre une harmonisation des méthodes, et d'autre part faciliter l'agrégation et la comparaison des données produites par l'ensemble de la communauté scientifique au niveau international. Elle nécessite une expertise pour l'identification morphologique des espèces. D'autres techniques analytiques plus

récentes, la spectrométrie de masse MALDI-TOF et l'identification moléculaire par séquençage sont proposées pour l'identification des espèces. Elles permettent de s'affranchir en partie de cette expertise mais sont peu disponibles et soumises à la qualité des bases de données de référence. En effet, un biais pour l'isolement existe en raison de la compétition entre les espèces cultivables sur le milieu gélosé et de la variabilité des conditions de développement des espèces fongiques.

Les principaux développements analytiques s'appuient sur les récents progrès des techniques de biologie moléculaire qui permettent de mettre en évidence les espèces non cultivables et les cellules mortes (non revivifiables) mais potentiellement allergisantes. Ils reposent essentiellement sur la mise en œuvre de méthodes de réaction en chaine par polymérase (PCR) en temps réel pour la détection et la quantification d'espèces ciblées. Cette technique d'amplification des acides nucléiques nécessite l'utilisation d'amorces spécifiques, supposant un choix préalable des espèces à détecter. A l'inverse, les approches métagénomiques (NGS) permettent de recenser l'ensemble des espèces et de caractériser la diversité fongique mais elles ne sont pas pour l'instant applicables en routine et requièrent des compétences en bio-informatique.

Les méthodes non spécifiques (béta-D-glucanes, nez électronique, ATPmétrie, NAHA, comptage particulaire, COV_m) ont été peu utilisées ces dernières années car elles ne donnent pas d'informations sur les espèces présentes et ne sont pas toujours corrélées à la contamination globale d'un environnement. Parmi les méthodes spécifiques, certaines ont disparu (sédimentation sur boîte, impaction sur support adhésif, et par précipitation électrostatique) et d'autres présentent des performances moindres et des perspectives limitées de développement (analyse de biologie moléculaire par gel (DHPLC, DGGE, …)).

Les récents développements tant en termes de prélèvement (impaction en milieu liquide, capteurs électrostatique) que d'analyse (techniques de biologie moléculaire) ouvrent des perspectives intéressantes de recherche pour la caractérisation de la flore fongique à mettre en relation avec des données de santé.

<u>Concernant les effets sur la santé des moisissures dans les environnements intérieurs</u>

Sur le plan épidémiologique, et ce depuis les revues de l'institut of medicine (IOM) et de l'organisation mondiale de la santé (OMS) publiées respectivement en 2004 et 2009, l'association entre l'exposition aux moisissures et la survenue d'effets respiratoires a été confirmée essentiellement pour l'asthme de l'enfant. La présence observée de moisissures dans les pièces à vivre et l'odeur de moisi, étudiées conjointement ou non avec l'humidité, sont associées au développement de l'asthme chez le jeune enfant avec des arguments forts suggérant la causalité. L'exposition à *Penicillium* (mis en évidence en culture après prélèvements d'air) est associée à l'aggravation des symptômes respiratoires.

Les données chez l'adulte sont peu nombreuses. En population générale, les données épidémiologiques ne permettent pas de conclure sur l'association entre l'exposition aux moisissures dans les environnements intérieurs et le risque d'asthme. Néanmoins, les études concernant les adultes exposés sur leur lieu de travail (bâtiments ayant connu d'importants dégâts des eaux) indiquent l'existence d'une association entre l'exposition à l'humidité et aux moisissures avec l'incidence et la prévalence de l'asthme. La plupart de ces données font suite à la reconnaissance en Finlande comme maladie professionnelle, de l'asthme induit par l'exposition à l'humidité et aux moisissures sur le lieu de travail.

Pour la rhinite, l'existence d'une association entre l'exposition aux moisissures visibles et le risque de rhinite allergique a été établie mais d'autres études longitudinales sont nécessaires.

Pour les effets neurologiques, des premières données suggèrent une association entre l'exposition de longue durée aux moisissures (> 2 ans) des enfants dès la petite enfance et l'altération de la fonction cognitive.

Le syndrome du bâtiment malsain et les effets psychologiques, autres effets étudiés en population générale, sont peu documentés.

Enfin, les études épidémiologiques présentant une caractérisation quantitative des expositions sont hétérogènes (diversité des méthodes de mesure) et ne permettent pas de définir un seuil sanitaire[44].

Sur le plan toxicologique, les données recensées sont complémentaires des conclusions présentées dans les rapports d'études antérieurs (OMS 2009 ; IOM 2004). Les études chez l'animal analysées permettent de conforter :

- le rôle central des réponses inflammatoires dans l'induction d'effets sanitaires respiratoires,
- l'importance du statut sensibilisé/non sensibilisé dans l'intensité de la réponse inflammatoire, l'induction d'effets cytotoxiques liés à une exposition aux métabolites fongiques,
- le pouvoir immunosuppresseur des β-glucanes.

Le rôle potentiel d'une exposition aux moisissures dans le développement ou l'exacerbation des allergies respiratoires et notamment de l'asthme est décrit dans les études : induction et augmentation d'une hyperréactivité bronchique, exacerbation des symptômes asthmatiformes. L'implication de la sensibilisation aux moisissures dans la sévérité des réponses inflammatoires et allergiques pulmonaires est également observée dans plusieurs études. Certaines études proposent des estimations du seuil d'allergénicité en lien avec l'exposition des animaux par voie respiratoire aux moisissures et il s'avère que la relation dose réponse pour le déclenchement de la réponse allergique est propre à chaque couple espèce-hôte. L'interprétation des résultats observés dans les études chez l'animal en vue d'une transposition aux expositions humaines est soumise à plusieurs limites (niveaux d'exposition, différences de sensibilité inter-espèces, différences méthodologiques dont le mode de sensibilisation des animaux).

La plupart des données toxicologiques disponibles concernent les effets induits par l'espèce *Stachybotrys chartarum* et ses toxines, y compris des effets extra-respiratoires (potentiel génotoxique, effets hématotoxiques, effets cardiovasculaires et effets neurosensoriels).

En se référant à la classification du niveau de preuve utilisée par l'OMS et l'IOM, le tableau ci-dessous confronte les conclusions de la présente expertise avec celles de ces 2 organismes :

[44] Seuil sanitaire correspond à un niveau de concentration en dessous duquel aucun effet sur la santé n'est attendu pour la population générale

Résumé des conclusions de l'IOM (2004), de celles de l'OMS (2009) et de la présente expertise concernant les liens entre la présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements humides et la survenue d'effets sur la santé

Effet sanitaire	**Conclusions de l'IOM (2004)** Présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements humides et survenue d'effets sanitaires **Analyse des études épidémiologiques principalement transversales parues jusqu'à fin 2003**	**Conclusions de l'OMS (2009)** Environnements humides et survenue d'effets respiratoires **Analyse des données épidémiologiques principalement transversales parues de mi 2003 à 2007**	**Conclusions de la présente expertise** Présence de moisissures et survenue d'effets sanitaires **Analyse des méta-analyses, revues systématiques et études longitudinales parues de 2007 à 2015**	
			Chez l'enfant	**Chez l'adulte**
Développement d'asthme	***Preuves suffisantes d'une association :*** Sifflements ***Preuves limitées d'une association :*** Pathologies des voies respiratoires inférieures chez les enfants en bonne santé ***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Développement d'asthme Pathologies des voies respiratoires inférieures chez les adultes en bonne santé	***Preuves suffisantes d'une association :*** Développement d'asthme Respiration sifflante Asthme actuel ***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Asthme toujours	***Preuves suffisantes d'une relation causale***	***Preuves suffisantes d'une association*** : asthme lié à l'exposition sur le lieu de travail ***Preuves limitées d'une association*** chez l'adulte en population générale
Exacerbation de l'asthme	***Preuves suffisantes d'une association :*** symptômes d'asthme chez les personnes asthmatiques sensibilisées	***Preuves suffisantes d'une association***		
Rhinite allergique	Non évalué individuellement ***Preuves suffisantes d'une association :*** Symptômes des voies aériennes supérieures (maux de gorge, conjonctivite, rhinite allergique et symptômes d'irritation des voies nasales tels que congestion ou écoulements)	***Preuves suffisantes d'une association :*** Symptômes des voies aériennes supérieures ***Preuves limitées d'une association :*** Rhinite allergique ***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Allergie ou atopie	***Preuves suffisantes d'une association***	
Autres effets respiratoires	***Preuves suffisantes d'une association :*** Pneumopathie d'hypersensibilité chez les personnes sensibles aux bactéries et moisissures des environnements intérieurs Toux ***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Dyspnée (difficulté à respirer) Obstruction des voies respiratoires (chez des individus en bonne santé) Syndrome d'irritation des muqueuses Broncho-pneumopathie chronique obstructive Fièvres d'inhalation (expositions non professionnelles)	***Preuves suffisantes d'une association :*** Toux Dyspnée Infections respiratoires ***Preuves limitées d'une association :*** Bronchites ***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Altération de fonction pulmonaire	Non évalué individuellement	
Effets neurologiques	***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Symptômes neuropsychiatriques	Non évalué	***Preuves limitées d'une association*** : Altération de la fonction cognitive chez l'enfant pour des expositions de longue durée (> 2 ans) aux moisissures dès la petite enfance	
Effets psychologiques			***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Syndrome du bâtiment malsain Effets psychologiques	
Autres effets	***Preuves inadéquates ou insuffisantes d'une association :*** Troubles rhumatologiques et autres maladies du système immunitaire Hémorragie pulmonaire idiopathique aiguë chez les nourrissons (hémosidérose) Symptômes d'irritation cutanée Troubles gastro-intestinaux Fatigue Cancer Effets sur la reproduction	Non évalué	Non évalué	

Preuves suffisantes d'une relation de cause à effet : *Les preuves disponibles sont suffisantes pour conclure qu'un lien de causalité existe entre la présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements intérieurs humides et l'effet observé ; cela signifie que l'exposition peut être responsable de l'effet en question, à minima chez certaines personnes, dans certaines circonstances.Les critères suivants doivent être satisfaits : force de l'association, relation dose-effet, plausibilité et cohérence biologique de l'association, temporalité de l'association.*

Preuves suffisantes pour établir une association : *Les preuves disponibles sont suffisantes pour conclure qu'il existe une association entre la présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements intérieurs humides et l'effet en question ; le rôle du hasard, des biais et des facteurs de confusion dans l'association observée a pu être exclu avec un niveau de confiance suffisant.*

Preuves limitées suggérant une association : *Les preuves disponibles suggèrent l'existence d'une association entre la présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements intérieurs humides et l'effet en question ; le niveau de preuve est limité par le fait que le rôle hasard, des biais et facteurs de confusion dans l'association observée ne peut être exclu avec suffisamment de confiance.*

Preuves inadéquates ou insuffisantes pour établir une association : *Les études disponibles sont de qualité insuffisante, manquent de cohérence ou présentent une puissance statistique trop faible pour permettre de conclure quant à l'existence ou non d'une association. Voire, aucune étude de l'association en question n'existe.*

Concernant l'identification de populations à risque

Un focus sur les groupes d'individus les plus à risque en termes d'effets sanitaires par rapport à la problématique des moisissures dans les environnements intérieurs a été réalisé dans cette expertise en considérant leur sensibilité individuelle ou un risque de surexposition de par leurs caractéristiques socio-économiques.

Cette expertise souligne les inégalités sociales de santé engendrées par des conditions de logement dégradées ne se limitant pas à l'exposition aux moisissures. Les caractéristiques socioéconomiques des occupants d'un logement, à l'instar du statut marital ou des ressources financières conduisant à une précarité énergétique ou une sur-occupation du logement, sont des éléments majeurs. Les familles monoparentales ou les ménages disposant de revenus faibles font partie des populations pour lesquelles la problématique des moisissures est la plus fréquemment rencontrée. D'autres éléments peuvent jouer un rôle substantiel tel que l'usage du logement (gestion des ordures, animaux…), ou encore la situation géographique avec des différences d'espèces fongiques les plus présentes dans les logements selon les régions, en France comme aux Etats-Unis où des études ont été conduites.

Au regard des sensibilités proprement dites vis-à-vis d'une exposition aux aérobiocontaminants fongiques, les enfants, les personnes asthmatiques, atopiques ou présentant une hypersensibilité, les patients immunodéprimés ou atteints de pathologies respiratoires chroniques (mucoviscidose, Bronchopneumopathie chronique obstructive) sont davantage susceptibles de développer des pathologies lorsqu'elles sont exposées aux moisissures que le reste de la population, ce risque étant conditionné par leur état physiologique ou leur statut immunologique. Une vigilance particulière est nécessaire vis-à-vis de ces populations à risque.

Concernant le développement des moisissures dans le bâti

L'état des lieux sur la situation française s'appuie sur les données de différentes enquêtes s'intéressant aux logements et documentant la contamination fongique par la recherche de signes apparents comme la peinture boursoufflée, des taches au plafond ou sur le bas des murs, une odeur d'humidité ou de moisi dans un bâtiment. La présence de moisissures visibles dans les logements français varie de 14 à 20% selon les sources. En Europe et Amérique du Nord, il est estimé qu'au moins 20% des logements sont concernés par la présence de moisissures.

Pour aller plus loin que l'observation visuelle, l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur (OQAI) dispose de données pour différents paramètres permettant d'évaluer le développement des moisissures dans les logements, les bâtiments performants en énergie et les écoles. L'analyse des données de la campagne nationale Logement ainsi que les données de la littérature ont permis d'appréhender les déterminants de la contamination fongique et de l'exposition aux moisissures dans les logements.

Des enjeux techniques en lien avec le bâti sont déterminants afin d'expliquer le développement de moisissures dans les environnements intérieurs. Les points critiques sont la ventilation, l'isolation et le chauffage sur lesquels il convient d'agir de façon globale.

Les phénomènes relatifs à la présence d'humidité (notamment dans sa phase liquide, liée à la condensation ou à une intrusion parasite (fissures, remontée capillaires, ...)) dans les enveloppes de bâtiments et les systèmes de ventilation sont à l'origine de l'apparition de moisissures. Les paramètres de température de paroi et de surpression/ dépression d'air sont aussi très importants et doivent être considérés en parallèle.

Les travaux expérimentaux concernent principalement la nature des matériaux favorables à la prolifération des moisissures ainsi que la modélisation permettant de prédire la croissance des moisissures. Les matériaux contenant de la cellulose constituent des supports propices au développement de moisissures ainsi que d'autres substrats bio-utilisables : papiers peints, plaques

de plâtre, produits de construction avec des matières premières facilement dégradables, joints à élasticité permanente, ...

Aucune solution pragmatique n'est proposée dans la littérature. Chaque élément est étudié distinctement et les phénomènes d'interaction macroscopique (ponts thermiques, défauts d'enveloppe, absence ou mauvais dimensionnement ou régulation de la ventilation ...) ne font pas partie des thématiques de recherche.

Une amélioration des connaissances des acteurs du bâtiment concernant l'identification des causes et la proposition d'interventions efficaces afin de supprimer ou réduire l'humidité et les moisissures dans le bâti devraient figurer dans les priorités de l'action publique française. Une attention particulière est à porter sur deux problématiques de terrain : la mise en chantier des bâtiments neufs et la rénovation de l'ancien.

<u>Concernant l'état des lieux et l'enseignement du terrain sur la gestion</u>

Au niveau international, il existe dans certains pays un cadre réglementaire et des orientations de politiques publiques permettant en partie de faire face à l'humidité et à la présence de moisissures dans les environnements intérieurs. Les exemples des pays nordiques étudiés sont riches d'enseignements illustrant les caractéristiques réglementaires et les modes d'intervention possibles. Par exemple, la Suède a rendu obligatoire le contrôle de la ventilation tous les 3 ans depuis 2006 et projette la mise en place d'une inspection et d'une déclaration obligatoire par un expert certifié du niveau d'humidité et de la présence de moisissures dans le logement lors des transactions immobilières.

Pour la caractérisation de la contamination des logements par des moisissures, deux démarches se distinguent à l'international : la première reposant sur la réalisation de prélèvement et d'analyse par culture, et la seconde sur la prévention et la remédiation des problèmes de développement des moisissures sans réalisation de mesures.

Dans le premier cas, le Portugal a également mis en place en 2013 une réglementation relative à l'identification de la présence de moisissures dans l'air intérieur dont la conformité repose sur des niveaux de concentration à respecter en fonction des espèces considérées. Des valeurs guides pour les moisissures variant de 100 à 1000 $UFC.m^{-3}$ ont été proposées dans les années 80 et 90 soit par des organismes gouvernementaux ou institutionnels, soit par des organisations professionnelles privées ou des experts. La concentration dans l'air intérieur en flore fongique de 1000 $UFC.m^{-3}$ ressort comme une concentration pouvant être qualifiée d'anormale avec une contamination potentielle qui est associée au déclenchement d'investigation. Ce niveau correspond aussi à la valeur du percentile 95 des niveaux moyens compilés à partir des données de la littérature suite à des prélèvements d'air par impaction et analyse par culture recensées dans le cadre de cette expertise.

Lorsque la réalisation de mesure n'est pas recommandée, des guides fournissent des préconisations ou règles susceptibles d'aider à l'évaluation et à la remédiation de la contamination. Différents niveaux de surfaces moisies ont été également proposés et associés à la mise en œuvre de mesures de remédiation. Pour les référentiels de l'OMS, du Canada, et de la ville de New York, 3 niveaux sont proposés, avec, pour le niveau faible, une surface maximale comprise entre 0,3 et 1m², et pour le niveau le plus élevé une surface de 3 à 9,3 m². Dans le rapport du CSHPF publié en 2006, les niveaux proposés sont similaires à ceux de l'OMS, avec un niveau faible supplémentaire (<0,03 m² soit environ ½ feuille A4).

En France, la règlementation est axée sur la gestion globale de l'habitat sans exigence spécifique concernant la contamination par des moisissures. Différentes notions d'habitat sont définies par la réglementation : habitat insalubre, indigne et indécent. Ces notions ont été élaborées dans des objectifs distincts et impliquent des responsables et acteurs différents. C'est un domaine complexe, avec de nombreux acteurs impliqués et les responsabilités sont souvent mal définies et

associées à des difficultés de travail en commun et d'échanges entre les acteurs sur un même territoire.

D'après les retours du terrain, dans le cadre des missions de lutte contre l'habitat insalubre, une évaluation d'un problème de contamination par des moisissures est réalisée principalement par une inspection visuelle lors de la visite d'un logement par un personnel de l'ARS (technicien sanitaire ou ingénieur) ou par un personnel de SCHS ou un Conseiller en environnement intérieur (CEI), et constitue en général un paramètre parmi de nombreux items pour caractériser l'insalubrité. Une action complémentaire est mise en œuvre dans quelques régions françaises associant les acteurs publics et des conseillers (Conseiller en environnement intérieur/ Conseiller Habitat Santé) pour l'évaluation des logements. Ainsi, les conseillers peuvent réaliser des prélèvements de moisissures via des scotch-test ou des écouvillonnages sur les surfaces moisies, et des bio-impacteurs pour l'analyse de l'air intérieur.

Les compétences des professionnels chargés d'évaluer la contamination fongique dans l'habitat sont souvent considérées hétérogènes et/ou insuffisantes ; une définition et une harmonisation des qualifications requises sont nécessaires.

Les travaux de remédiation d'humidité et de moisissures échouent régulièrement par manque de formation des professionnels du bâti dans ce domaine et du fait de l'incapacité ou de la réticence des propriétaires à consacrer ou investir les moyens financiers nécessaires.

D'une manière générale, le niveau de connaissances vis-à-vis de la problématique des moisissures des différents acteurs professionnels impliqués dans la prévention du développement de contaminations fongiques (domaines de la construction, de la rénovation et de la remédiation) et/ou dans la prise en charge des risques pour les populations exposées (professionnels de santé, acteurs sociaux et PMI pour le signalement ; professionnels chargés d'apprécier la contamination fongique du bâti) est un facteur clé pour la réduction de l'exposition aux moisissures et des effets sanitaires associés.

- **Recommandations du groupe de travail**

I. <u>Recommandations concernant la prévention du développement de contaminations fongiques dans le bâti :</u>

Le groupe de travail recommande en premier lieu la mise en place d'actions de formation afin de sensibiliser les professionnels du bâtiment sur la nécessité de prévenir le développement de moisissures dans la structure du bâti dans le double objectif de protéger la santé des personnes et de préserver la durabilité du bâti, en l'occurrence :

- Construction de nouveaux bâtiments : Architectes, maitres d'œuvre et maitres d'ouvrage
- Rénovation de bâtiments existants : Artisans, ingénieurs, architectes et ceci dans le but d'intégrer une vision globale des enjeux techniques de rénovation comme l'isolation, la ventilation et le chauffage.
- Remédiation de bâtiments existants : Artisans, ingénieurs, architectes et ceci dans le but d'intégrer une vision globale des enjeux techniques de remédiation, de décontamination et de rénovation notamment concernant l'isolation, la ventilation et le chauffage.

Le groupe de travail souligne la nécessité de sensibiliser les professionnels de la remédiation sur les risques sanitaires induits par une exposition aux moisissures et par conséquent de mettre en place des dispositifs de prévention permettant de limiter leur exposition.

Le groupe de travail recommande les actions suivantes à inscrire dans la réglementation, notamment en s'appuyant sur les retours de la consultation internationale et en particulier l'exemple de la Suède :

- que soit intégré dans la prochaine réglementation thermique (RT 2020) le contrôle de la ventilation et de l'humidité relative par mesure in situ en phase habitée (et non avant

livraison). Le taux d'humidité relative serait acceptable entre 40 à 60% (sur une plage de températures entre 18 et 22°C).

- que soient complétés les certificats énergétiques nécessaires dans les transactions immobilières par une déclaration concernant la ventilation, la présence ou non de moisissures et éventuellement le taux d'hygrométrie des matériaux constitutifs du bati.
- que soit rendu obligatoire un contrôle a minima quinquennal de l'efficacité des systèmes de ventilation (fonctionnement, valeur des débits, qualité de la filtration, par exemple).
- que soit établi une certification ou un label pour l'expertise et le contrôle avec une formation nationale obligatoire en vue de prétendre à une certification en tant qu'expert. Ce dernier réalisera le diagnostic de l'habitat et l'identification des causes (ponctuelles et structurelles) de la contamination ainsi que le contrôle des bâtiments neufs ou rénovés par rapport aux développements des moisissures
- que soit rendue obligatoire l'évaluation de la vulnérabilité des matériaux de construction vis-à-vis du développement des moisissures avant mise sur le marché pouvant s'appuyer sur les normes existantes. L'étiquetage des matériaux de construction pourrait alors être complété pour l'information des utilisateurs en aval. Cette évaluation serait à faire sur le matériau garanti sans additifs à activité antifongique pour ne pas inciter les industriels à avoir recours à des produits biocides potentiellement toxiques pour l'Homme.
- que soit mis en place des aides financières pour favoriser la réalisation de travaux de rénovation de l'isolation du logement dont l'octroi devra être conditionné à une évaluation préalable des besoins de ventilation associés.

Concernant les mesures d'informations suivantes destinées à la population générale afin de les rendre acteurs de la prévention du développement de moisissures, le groupe de travail recommande que :

- Pour les propriétaires occupants en lien avec la gestion de copropriété :

Un cahier d'entretien et de maintenance des bâtiments et parties communes le cas échéant soit mis en place.

- Pour les occupants au moment de l'entrée dans l'habitation :

Un fascicule d'information puisse être délivré au moment de l'entrée dans l'habitation présentant les règles d'utilisation des systèmes de ventilation et d'entretien de ceux-ci, que ce soit à la location ou à l'achat d'un logement.

- Pour les municipalités :

Un conseil technique vise à évaluer de manière concomitante les caractéristiques thermiques et hygrométriques du logement soit proposé aux concitoyens.

En terme d'action de communication par les pouvoirs publics, le groupe de travail recommande que :

- Le site internet prévention maison [45] puisse être actualisé et les campagnes d'information sur la qualité de l'air intérieur dans le bâti en France relancées avec un focus particulier sur la prévention du développement des moisissures.
- Des animations au niveau des territoires puissent être organisées sur l'enjeu de santé publique que représente l'exposition aux moisissures dans le bâti comme des ateliers, conférences, débats dans les écoles de santé, dans les ateliers santé-ville.

[45] http://www.prevention-maison.fr/ réalisé par l'Institut national de prévention et d'éducation pour la santé (Inpes) avec l'Institut de veille sanitaire (InVS) et l'Etablissement de préparation et de réponse aux urgences sanitaires (Eprus) sont devenus depuis le 01/05/2016 Santé publique France

II. Recommandations concernant la prise en charge du risque fongique pour les populations exposées

Le groupe de travail recommande :

- que l'exposition aux moisissures soit prise en compte explicitement dans la gestion de l'habitat en clarifiant les responsabilités des différents intervenants. Les dispositifs réglementaires existant distinguant l'habitat insalubre, indigne et indécent mériteraient d'être simplifiés et d'inclure une gestion explicite des moisissures.
- que tous les occupants aient un interlocuteur unique pour le signalement en ciblant prioritairement les populations à risque ; par exemple par le biais de la mise à disposition d'une fiche de signalement standardisée en Mairie (interface en ligne disponible également) comme en Suède.

Le tableau proposé dans cette partie appuie des pistes d'amélioration sur le signalement en termes d'acteurs et de critères, sur l'évaluation de la situation et sur les actions à mettre en œuvre. Les populations à risque ciblées dans ce tableau devraient être intégrées dans la procédure d'insalubrité et un ajustement du délai pour la prescription de travaux et la substitution en cas de défaillance des propriétaires devrait être mis en œuvre en fonction de la population à risque considérée.

<u>Proposition plus spécifique pour la prise en charge du risque fongique pour des populations à risque</u> correspondant à des sous-groupes de populations plus susceptibles de développer les effets sanitaires suite à une exposition aux moisissures

	<u>Population à risque</u>	**<u>Signalement</u>**		**<u>Evaluation de la situation à l'appréciation des acteurs de santé</u>** *Réalisation de l'enquête à domicile par des acteurs publics (SCHS, ARS) ou conseillers (CEI ou Conseiller habitat santé)*	**<u>Actions</u>**
		<u>Acteurs</u>	**<u>Critères</u>**		
Populations avec sensibilité individuelle (pathologies préexistantes, âge)	**Enfants ou adultes atteints de pathologies respiratoires chroniques** (notamment asthme ou rhinite)	Professionnels de santé (pédiatre, pneumologue, allergologue, généraliste), Personnels de santé à domicile, Acteurs sociaux	Présence de moisissures visibles, humidité, dégât des eaux ou odeur de moisi signalée Ou signes cliniques / aggravation de symptômes	• Evaluation de la surface moisie • Réalisation de prélèvements pour une caractérisation qualitative et/ou quantitative de la flore fongique (surfaces, air, poussières) et caractérisation de la diversité fongique)	Travaux permettant de traiter la cause et le développement des moisissures + contrôle de l'efficacité Arrêté d'insalubrité si : surface moisie supérieure à 3m² ; concentration en flore fongique supérieure à 1000 UFC.m^{-3}
	Patients Immunodéprimés à risque élevé d'infection fongique invasive à champignons filamenteux (hématologie, notamment allogreffe de moelle, transplantation d'organes)	Professionnels hospitaliers (hématologues, médecins transplanteurs)	Renseignements sur le logement par rapport à la présence de moisissures visibles, humidité, dégât des eaux, odeur de moisi signalée avant l'intervention /entretien pré-greffe ou au cours du suivi de transplantations d'organes	• Evaluation de la surface moisie • Réalisation de prélèvements pour une caractérisation qualitative et/ou quantitative de la flore fongique (surfaces, air, poussières) et caractérisation de la diversité fongique notamment pour l'identification de genres fongiques (espèces pathogènes thermotolérantes : *Aspergillus fumigatus*, mucorales)	Travaux permettant de traiter la cause et le développement des moisissures + contrôle de l'efficacité Accompagnement + nettoyage des pièces de vie Arrêté d'insalubrité si : surface moisie supérieure à 3m² ; concentration en flore fongique supérieure à 1000 UFC.m^{-3} Réalisation des travaux avant retour au domicile (hospitalisation dans une structure de moyen séjour pendant la période de rénovation) + Visite après remédiation.
	Enfants dès la naissance	Professionnels de santé (généraliste, pédiatre, pneumologue-allergologue) Personnels de santé à domicile Acteurs sociaux Professionnels de PMI Personnels des crèches/écoles Professionnels hospitaliers	Présence de moisissures visibles, humidité, dégât des eaux ou odeur de moisi au domicile ou crèche/école	• Evaluation de la surface moisie • Eventuellement réalisation de prélèvements pour une caractérisation qualitative et/ou quantitative de la flore fongique (surfaces, air, poussières) et caractérisation de la diversité fongique	Travaux permettant de traiter la cause et le développement des moisissures + contrôle de l'efficacité Arrêté d'insalubrité si : surface moisie supérieure à 3m² ; concentration en flore fongique supérieure à 1000 UFC.m^{-3}
Populations surexposées	**Populations à risque du fait d'une surexposition** - en précarité énergétique ou vivant en suroccupation	Professionnels de santé Acteurs sociaux Professionnels de PMI	Présence de moisissures visibles, humidité, dégât des eaux ou odeur de moisi au domicile		

A l'instar de ce qui est proposé pour les populations à risque, les modalités suivantes sont proposées pour la prévention de la santé au travail :

- Signalement
  - Acteurs : Médecin du travail, Comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail (CHSCT), intervenant en prévention du risque professionnel (IPRP), Directeur de l'entreprise
  - Critères : Présence de moisissures visibles, humidité, dégât des eaux ou odeur de moisi signalée ou signes cliniques
- Evaluation de la situation
  - Evaluation de la surface moisie
  - Réalisation de prélèvements pour une caractérisation qualitative et/ou quantitative de la flore fongique (surfaces, air, poussières) si déclaration d'asthme professionnel
- Action : Travaux permettant de traiter la cause et le développement des moisissures et contrôle de l'efficacité

Le groupe de travail recommande que l'asthme consécutif à une exposition aux moisissures sur le lieu de travail puisse être reconnu au titre de la réparation en envisageant une mise à jour de la liste limitative des travaux susceptibles de provoquer les affections des rhinites et asthmes professionnels dans le tableau n° 66 du régime général de la sécurité sociale comme c'est le cas en Finlande.

Compte tenu des enjeux de santé publique liés à l'exposition aux moisissures dans le bâti (logements et lieux accueillant du public) que ce soit pour la population générale et les travailleurs, le groupe de travail recommande la formation initiale et continue des professionnels de santé et des acteurs sociaux afin de les sensibiliser sur leurs implications dans le signalement et la prise en charge pour les populations à risque en considérant :

- Les populations présentant une sensibilité individuelle du fait de leur état physiologique ou de leur statut immunologique : personnes aux âges extrêmes de la vie, présentant une pathologie pré existante, un terrain atopique ou une déficience du statut immunitaire.
- Les populations à risque de surexposition du fait de caractéristiques socio-économiques défavorables comme les ressources financières conduisant à une précarité énergétique ou une sur-occupation du logement, vivant dans des conditions de logement dégradées ne se limitant pas à l'exposition aux moisissures.

III. Recommandations relatives à l'évaluation de l'exposition aux moisissures :

Concernant le prélèvement et l'analyse des moisissures, le groupe de travail recommande d'effectuer les échantillonnages et les analyses par culture selon les normes ISO 16000-16 à 21 qui peuvent être complétés par tout type de prélèvements (matériaux, surfaces, poussières…) permettant de déterminer la source ou les espèces présentes.

Le groupe de travail recommande aussi :

- qu'un protocole d'échantillonnage soit défini pour la collecte d'échantillons de poussières qui pourrait reposer soit sur un prélèvement par aspiration (1 m² aspiré pendant 2 minutes) soit par capteur électrostatique.
- qu'une base de données des différentes mesures réalisées en France soit établie dans l'optique de centraliser et d'analyser des données afin de constituer des références nationales mais aussi régionales.

Compte tenu de l'impossibilité de définir un seuil sanitaire en l'absence de données quantitatives entre la survenue d'effets et l'exposition aux moisissures dans les environnements intérieurs, le groupe de travail suggère les modalités suivantes pour l'interprétation des résultats s'appuyant sur

les connaissances relatives à la contamination habituellement évaluée/mesurée dans les environnements intérieurs et les mesures de gestion suivante:

- Observation de l'étendue des surfaces moisies cumulées au niveau des pièces à vivre :
  - <0,2 m² (3 feuilles A4) : niveau faible de contamination - nettoyage par le particulier (étude de cohorte mettant en évidence une augmentation du risque d'asthme pour ce 3ème niveau de classification) ;
  - 0,2 – 3 m² : niveau moyen de contamination – pour lequel une intervention est nécessaire. En l'absence de données actuelles sur les risques encourus, il semble possible d'autoriser une intervention par le particulier, mais des mesures de précautions doivent être respectées ;
  - > 3 m² – critères d'insalubrité : niveau élevé de contamination - pour lequel une intervention est nécessaire par un professionnel labélisé pour la remédiation.
- Mesures par impaction et analyse par culture de l'air :
  - concentrations en flore fongique supérieures à 1000 UFC.m^{-3}, niveau de concentration issu de la compilation des données de la littérature expertisée qui est dépassé dans 5% des logements et établissements recevant du public investigués - pour lesquelles une intervention est nécessaire par un professionnel labélisé pour la remédiation.
- Toutes mesures amenant à l'identification des genres ou espèces fongiques (air, poussières et analyse par culture ou PCR quantitative en temps réel, surfaces et analyse par examen microscopique ou culture) avec une attention particulière :
  - aux espèces décrites comme présentant des risques potentiels dans l'expertise du CSHPF reposant sur un jugement d'experts (*Acremonium* spp.*, Alternaria alternata, Aspergillus flavus, Aspergillus fumigatus, Aspergillus niger, Aureobasidium, Chaetomium* spp., *Cladosporium sphaerospermum, Epicoccum* spp., *Fusarium* spp*., Mucorales, Stachybotrys chartarum, Trichoderma* spp., *Trichothecium* spp.)
  - en complément, aux espèces fongiques associées à des effets sur la santé dans des études longitudinales recensées dans la présente expertise : *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp. .
  - Enfin, aux espèces proposées par jugement d'experts en lien avec les données recueillies dans le cadre de cette expertise : *Aspergillus versicolor, Epicoccum* spp., *Ulocladium* spp. ainsi que l'effondrement de la biodiversité fongique comme risque ou dysfonctionnement supplémentaire.

IV. Recommandations de recherche :

En matière de veille scientifique et de recherche, le groupe de travail recommande :

- De poursuivre les études visant la caractérisation de la situation française de contamination par des moisissures dans les bâtiments et d'initier des études spécifiques pour caractériser la situation dans les départements et régions d'outre-mer :
  - Les questionnaires proposés pour caractériser les « Logements » devraient être complétés par des questions spécifiques et individuelles sur l'odeur de moisi, la présence de moisissures visibles et la surface concernée.
  - Les développements récents mis en avant dans cette expertise devraient être mis en œuvre : méthodes de mesures par lingettes électrostatiques, cyclones, capteurs individuels suivie d'une analyse par culture et PCR quantitative en temps réel.
  - Un protocole national serait à définir pour la réalisation des mesures
  - Les nouvelles constructions de bâtiments énergétiquement performants devraient être suivies sur plusieurs années
- De constituer une base de données relatives à l'exposition qui serait centralisée par un organisme public pour faire un état de la situation française suivant les régions et permettant de mettre à disposition les informations acquises et d'avoir des références plus complètes.

  - Les informations suivantes sont à recueillir : la localisation (coordonnées géographiques par exemple des logements, immeubles, écoles), la méthode de mesure utilisée, les caractéristiques du bâti (date de construction, matériaux, type de ventilation, niveau de performance énergétique...), l'occupation, le type de propriétaire ainsi que les interventions de remédiation réalisées.
- D'encourager la poursuite des recherches épidémiologiques longitudinales permettant d'analyser la survenue d'effets sur la santé intégrant un volet sur la qualité du logement formulant systématiquement une question spécifique sur la présence de moisissures visibles.
  - La réalisation dans les études épidémiologiques de mesures permettant de caractériser différents niveaux d'exposition ainsi que l'identification plus fine des espèces fongiques est importante pour étudier la relation dose-réponse en vue de définir un seuil sanitaire ;
  - La réalisation d'études interventionnelles est aussi nécessaire pour évaluer l'intérêt et l'efficacité de travaux de remédiation avec des marqueurs de santé.
- De conduire des études de toxicologie afin d'évaluer les effets de l'exposition à l'air ou aux poussières provenant de logements contaminés par les moisissures, en lien avec la présence des différentes espèces fongiques et de leurs composants (spores, mycotoxines, allergènes, COV_m). Ces études devraient permettent de déterminer l'implication de ces différent facteurs étudiés seuls ou en mélange, d'établir des seuils et des doses réponses et de qualifier les interactions entre ces différents facteurs

Enfin, dans le domaine de la sociologie, le groupe de travail recommande :

- de réaliser des enquêtes relatives aux conséquences d'une exposition spécifique aux moisissures en matière de santé mentale et d'isolement social ainsi que d'impact sur les représentations de soi et de sa santé. En effet, le logement en tant que déterminant de la santé intervient de manière dynamique dans un processus de précarisation ou d'intégration sociale.
- de mettre en place, en particulier pour les populations en situation de précarité énergétique, des études sur la perception et l'usage des dispositifs existants et des recommandations pour le bon usage d'un logement afin d'identifier les freins et les leviers d'actions dans l'optique d'accroitre l'efficacité des informations disponibles.

Date de validation du rapport d'expertise collective par le groupe de travail et par le comité d'experts spécialisé : 14 avril 2016

9 Bibliographie

Agarwal R, Srinivas R, Jindal SK. (2008) Allergic bronchopulmonary aspergillosis complicating chronic obstructive pulmonary disease. *Mycoses.* 51(1):83-5.

Alanio A, Beretti JL, *et al.* (2011) Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for fast and accurate identification of clinically relevant Aspergillus species. *Clinical Microbiology and Infection* 17(5), 750-755.

Alanio A, Bretagne S (2014) Difficulties with molecular diagnostic tests for mould and yeast infections: where do we stand? *Clinical Microbiology and Infection* 20 : 36-41.

Allard F. (2014) Les enjeux de la réhabilitation énergétique des bâtiments Journées énergie, transports, habitat : quels enjeux pour demain ? Poitiers. 21/04/2014 https://www.google.fr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0ahUKEwjPt9qWvPXMAhWHrxoKHRwVCzYQFggcMAA&url=http%3A%2F%2Ff.emf.fr%2Fconfs2014%2F2014-05-21_journees_energie_transports_habitat%2FF.%2520ALLARD-Poitiers%252021-05-2014.ppt&usg=AFQjCNFhzijXiO_J9jNKm3da-g0taKkT2A&cad=rja

Andersen B, Frisvad JC, Søndergaard I, Rasmussen IS, Larsen LS (2011) Associations between fungal species and water-damaged building materials. *Applied and environmental microbiology* 77(12) : 4180-4188.

Anses (2013) Propositions de Valeurs Guides de qualité de l'Air intérieur. Dioxyde d'azote. (Saisine n° 2011-SA-0021). Agence nationale de sécurité sanitaire, Maisons-Alfort, France. 150 p.

ANSI (2008) BSR-IICRC S520 Mold Remediation. Standard and Reference Guide for Professional Mold Remediation. American National Standards Institute (ANSI). Institute of Inspection, Cleaning and Restoration Certification (IICRC).

Antova T, Pattenden S, *et al.* (2008) Exposure to indoor mould and children's respiratory health in the PATY study. *Journal of Epidemiology and Community Health* 62, 708-714.

Arnault S., Crusson L., Donzeau N., Rougerie C. (2015) Les conditions de logement fin 2013 Premiers résultats de l'enquête Logement, Institut national de la statistique et des études économiques (Insee) - Insee Première N° 1546, Avril 2015

ARS Rhônes-Alpes (2013) Guide de l'habitat indigne dans la Drôme. Lutte contre l'habitat indigne dans la Drôme : qui fait quoi ?. Agence régionale de santé Rhône-Alpes, PDLHI de la Drôme. 50pp.

ASHRAE (2012) Position Document on Limiting Indoor Mold and Dampness in Buildings. ASHRAE. American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers. Société américaine de chauffage, ventilation et conditionnement d'air. 22 p.

ATSM C1338 A (2008) Standard test method for determining fungi resistance of insulation materials and facings. . 3p. American Society for Testing and Materials. Société américaine pour les essais et les matériaux

Babès M., Bigot R., Hoibian S. (2011) Les dommages collatéraux de la crise du logement sur les conditions de vie de la population, décembre 2011 Rapport Crédoc - Centre de recherche pour l'étude et l'observation des conditions de vie

Bafadhel, M., McKenna, S., Agbetile, J., Fairs, A. *et al.* (2014). Aspergillus fumigatus during stable state and exacerbations of COPD. *Eur. Respir. J*. 43, 64–71.

Barberán A, Dunn RR, *et al.* (2015) The ecology of microscopic life in household dust. Proceedings of the Royal Society of London B: *Biological Sciences* 282(1814).

Barnes, C, K Kennedy, and J Portnoy. (2007) Cleaning the indoor environment to improve health." *Allergy & clinical immunology international-journal of the world allergy organization* 19 (6):218-224.

Beasley R, Semprini A, Mitchell EA. (2015) Risk factors for asthma: is prevention possible? *Lancet*.;386(9998):1075-85.

Beauvais A, Fontaine T, Aimanianda V, Latgé JP. (2014) Aspergillus cell wall and biofilm. *Mycopathologia*. ;178(5-6):371-7

Behbod B, Sordillo JE, *et al.* (2013) Wheeze in infancy: Protection associated with yeasts in house dust contrasts with increased risk associated with yeasts in indoor air and other fungal taxa. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology* 68(11), 1410-1418.

Behbod B, Sordillo JE*, et al.* (2015) Asthma and allergy development: Contrasting influences of yeasts and other fungal exposures. *Clinical and Experimental Allergy* 45(1), 154-163.

Bellanger AP, Reboux G, Roussel S, Grenouillet F, *et al.* (2009) Indoor fungal contamination of moisture-damaged and allergic patient housing analysed using real-time PCR. *Letters in Applied Microbiology* 49(2), 260-266.

Bellanger A-P, Reboux G, Murat J-B, Bex V, Millon L (2010) Detection of Aspergillus fumigatus by quantitative polymerase chain reaction in air samples impacted on low-melt agar. *American Journal of Infection Control* 38(3), 195-198.

Bellemain E, Carlsen T, Brochmann C, Coissac E, Taberlet P, Kauserud H (2010) ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in silico approach reveals potential PCR biases. *BMC Microbiol* 10, 189.

Berger, J. (2014). "Contribution à la modélisation hygrothermique des bâtiments: application des méthodes de réduction de modèle." (Thèse de doctorat, Génie civil) Université de Grenoble. Accessible en ligne : https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01127189/

Berna AZ, Trowell S, Cynkar W, Cozzolino D (2008) Comparison of Metal Oxide-Based Electronic Nose and Mass Spectrometry-Based Electronic Nose for the Prediction of Red Wine Spoilage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(9), 3238-3244.

Bergkvist K, Larsen J, Johansson UB, Mattsson J, Svahn BM (2013) Hospital care or home care after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation - Patients' experiences of care and support. *European Journal of Oncology Nursing* 17(4), 389-395.

Bhan U, Newstead MJ, Zeng X, Podsaid A, *et al.* (2013) TLR9-dependent IL-23/IL-17 is required for the generation of stachybotrys chartarum-induced hypersensitivity pneumonitis. *Journal of Immunology* 190(1), 349-356.

Biagini JM, LeMasters GK, *et al.* (2006) Environmental risk factors of rhinitis in early infancy. *Pediatr Allergy Immunol* 17(4), 278-84.

Blanc PD, Quinlan PJ, Katz PP, Balmes JR, *et al.* (2013) Higher environmental relative moldiness index values measured in homes of adults with asthma, rhinitis, or both conditions. *Environmental Research* 122, 98-101.

Bokulich NA, Mills DA (2013) Improved Selection of Internal Transcribed Spacer-Specific Primers Enables Quantitative, Ultra-High-Throughput Profiling of Fungal Communities. *Applied and Environmental Microbiology* 79(8), 2519-2526.

BMA (2003) Housing and health: building for the future. London: British Medical Association.

Braubach M & Savelsberg J (2009) Social inequalities and their influence on housing risk factors and health. A data report based on the WHO LARES database. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark, 20p.

Braubach M & Fairburn J (2010) Social inequities in environmental risks associated with housing and residential location—a review of evidence. *The European Journal of Public Health* 20(1), 36-42.

Braubach M, Jacobs DE, Ormandy D (2011) Environmental burden of disease associated with inadequate housing. A method guide to the quantification of health effects of selected housing risks in the WHO European Region. WHO Europe, Copenhagen.

Braun-Fahrländer C, Riedler J, *et al.* (2002) Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *New England Journal of Medicine* 347(12), 869-877.

Brown T, Dassonville C, Derbez M, Ramalho O, *et al.* (2015) Relationships between socioeconomic and lifestyle factors and indoor air quality in French dwellings. *Environmental Research* 140, 385-396.

Bundy KW, Gent JF, Beckett W, Bracken MB, *et al.* (2009) Household airborne Penicillium associated with peak expiratory flow variability in asthmatic children. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology* 103(1), 26-30.

Burr ML, Matthews IP, Arthur RA, Watson HL, *et al.* (2007) Effects on patients with asthma of eradicating visible indoor mould: A randomised controlled trial. *Thorax* 62(9), 766-771.

Bush RK, Portnoy JM (2001) The role and abatement of fungal allergens in allergic diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 107, S430–S440.

Bustin SA, Benes V, *et al.* (2009) The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin Chem* 55(4), 611-22.

Caillaud D, Raobison R, Evrard B, Montcouquiol S, Horo K. (2012a) Pneumopathies d'hypersensibilité domestiques. Alvéolites allergiques extrinsèques domestiques. *Rev Mal Respir*. 29(8):971-7.

Caillaud DM, Vergnon JM, Madroszyk A, Melloni BM *et al.* (2012b) Bronchoalveolar lavage in hypersensitivity pneumonitis: A series of 139 patients. *Inflammation and Allergy - Drug Targets* 11(1), 15-19

Casas L*, et al.* (2013) Endotoxin, extracellular polysaccharides, and β(1-3)-glucan concentrations in dust and their determinants in four European birth cohorts: Results from the HITEA project. *Indoor Air* 23(3), 208-218.

CDC (2014) Mold General Information Basic Facts. Molds in the Environment. Center for disease control and prevention. Dossier du site internet (http://www.cdc.gov/mold/faqs.htm, consulté en janvier 2016)

Celtik C, Okten S, Okutan O, Aydogdu H, *et al.* (2011) Investigation of indoor molds and allergic diseases in public primary schools in Edirne city of Turkey. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology* 29(1), 42-49.

Ceylan E, Ozkutuk A, Ergor G, Yucesoy M, *et al.* (2006) Fungi and indoor conditions in asthma patients. *J Asthma* 43(10), 789-94.

Ceylan E, Doruk S, Genc S, Ozkutuk AA, *et al.* (2013) The role of molds in the relation between indoor environment and atopy in asthma patients. *Journal of Research in Medical Sciences* 18(12), 1067-1073.

Chardon O., Daguet F., Vivas É. (2008), Les familles monoparentales - Des difficultés à travailler et à se loger, Insee Première N° 1195

Charpin-Kadouch C, Maurel G, Felipo R, Queralt *et al.* (2006) Mycotoxin identification in moldy dwellings. *Journal of Applied Toxicology* 26(6), 475-479.

Cho SH, Reponen T, Bernstein DI, *et al.* (2006a) The effect of home characteristics on dust antigen concentrations and loads in homes. *Science of the Total Environment* 371(1-3), 31-43.

Cho SH, Reponen T, LeMasters G, L*et al.* (2006b) Mold damage in homes and wheezing in infants. *Ann Allergy Asthma Immunol* 97(4), 539-45.

Choi H, Byrne S, Larsen LS, Sigsgaard T, *et al.* (2014) Residential culturable fungi, (1-3, 1-6)-beta-d-glucan, and ergosterol concentrations in dust are not associated with asthma, rhinitis, or eczema diagnoses in children. *Indoor Air* 24(2), 158-70.

Chow,P.K.,Chan,V.W.Y.,&Vrijmoed,L.L.P.(2005). An investigation on the occurrence of fungi and bacteria in the MVAC system in an office premise. Presented at the 10th International Conference on Indoor Air Quality and Climate (Indoor Air 2005), Beijing, pp.1096–1100.

Ciebiada M, Domagała M, Gorska-Ciebiada M, Gorski P (2014) Risk factors associated with irreversible airway obstruction in nonsmoking adult patients with severe asthma. *Allergy and Asthma Proceedings* 35(5), e72-e79.

Claeson AS, Sunesson AL (2005) Identification using versatile sampling and analytical methods of volatile compounds from Streptomyces albidoflavus grown on four humid building materials and one synthetic medium. *Indoor Air, Supplement* 15(9), 41-47

Clarke, JA, CM Johnstone, NJ Kelly, RC McLean, NJ Rowan, and JE Smith. (1999) A technique for the prediction of the conditions leading to mould growth in buildings. *Building and Environment* 34 (4):515-521.

Cochez N., Durieux E., Levy D. (2015) Vulnérabilité énergétique Loin des pôles urbains, chauffage et carburant pèsent fortement dans le budget, Insee Première, N°1530, Janvier 2015

Cofrac (2015) Guide technique d'accréditation pour l'évaluation technique de l'état d'insalubrité et d'occupation des immeubles d'habitation. Document INS GTA 07 Révision 00. Comité français d'accréditation. 7p.

Concannon P (2002) Technical Note AIVC 57: Residential Ventilation. Brussels, Air Infiltration and Ventilation Center (AIVC).

Cox-Ganser JM, Rao CY, Park JH, Schumpert JC, Kreiss K (2009) Asthma and respiratory symptoms in hospital workers related to dampness and biological contaminants. *Indoor Air* 19(4), 280-290

CSHPF (2006) Contaminations fongiques en milieux intérieurs Diagnostic, effets sur la santé respiratoire, conduites à tenir. Rapport du GT « Moisissures dans l'habitat ». Conseil supérieur d'hygiène publique de France. 101 p.

CSTB. 2015. Guide pratique : Moisissures dans votre logement ? Les éliminer en toute sécurité. Centre scientifique et technique du bâtiment. 17 p.

Cummings KJ, Cox-Ganser J, Riggs MA, Edwards N, *et al.* (2008) Health effects of exposure to water-damaged New Orleans homes six months after Hurricanes Katrina and Rita. *American Journal of Public Health* 98(5), 869-875.

D'Amato G, Chatzigeorgiou G, Corsico R *et al.* (1997) Evaluation of the prevalence of skin prick test positivity to Alternaria and Cladosporium in patients with suspected respiratory allergy. A European multicenter study promoted by the Subcommittee on Aerobiology and Environmental Aspects of Inhalant Allergens of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* ; 52 : 711-716

D'Orazio M, Palladini M, Aquilanti L, Clementi F (2009) Experimental evaluation of the growth rate of mould on finishes for indoor housing environments: effects of the 2002/91/EC directive. *Building and Environment* 44(8), 1668-1674.

Dales R, Miller D, Ruest K, Guay M, Judek S (2006) Airborne endotoxin is associated with respiratory illness in the first 2 years of life. *Environmental Health Perspectives* 114(4), 610-614.

Dales R, Ruest K, Guay M, Marro L, David Miller J (2010) Residential fungal growth and incidence of acute respiratory illness during the first two years of life. *Environmental Research* 110(7), 692-698.

Dalphin J, Reboux G, Lefebvre A, Thaon I. (2009) Pneumopathies d'Hypersensibilité. In: Flammarion, ed. Traité de Pneumologie. 2ème ed. Paris 2009:1009-20.

Dalphin JC. (2012) Les pneumopathies d'origine domestique. *Rev Mal Respir*. 29:953-5.

Dannemiller KC, Lang-Yona N, Yamamoto N, Rudich Y, Peccia J (2014a) Combining real-time PCR and next-generation DNA sequencing to provide quantitative comparisons of fungal aerosol populations. *Atmospheric Environment* 84, 113-121.

Dannemiller KC, Mendell MJ, Macher JM, Kumagai K, *et al.* (2014b) Next-generation DNA sequencing reveals that low fungal diversity in house dust is associated with childhood asthma development. *Indoor Air* 24(3), 236-247.

Dassonville C, Demattei C, Detaint B, Barral S, Bex-Capelle V, Momas I (2008) Assessment and predictors determination of indoor airborne fungal concentrations in Paris newborn babies' homes. *Environmental Research* 108(1), 80-85.

de Hoog G. S. (2000) Atlas of Clinical Fungi, Second Edition. Amer Society for Microbiology. 1126 p.

Debono. O., Thévenet F., Gravejat P., *et al.* (2013) Gas phase photocatalytic oxidation of decane at ppb levels: removal kinetics, reaction intermediates and carbon mass balance, *Journal of Photochemistry & Photobiology, A: Chemistry*, 258: 17-29.

Delmas MC, Guignon N, Leynaert B, Annesi-Maesano I, *et al.* (2012) Prevalence and control of asthma in young children in France. *Revue des Maladies Respiratoires* 29(5), 688-696.

Desbois N, Beguin H, Ruck G, Nere J, Nolard N (2006) Annual variation of fungal spores in atmosphere of Martinique. *Journal de Mycologie Medicale* 16(4), 189-196.

Destaillats H, Sleiman M, Sullivan DP, Jacquiod C, Sablayrolles J, Molins L (2012) Key parameters influencing the performance of photocatalytic oxidation (PCO) air purification under realistic indoor conditions. *Applied Catalysis B: Environmental* 128, 159-170.

Dhalluin A (2012) Etude de stratégies de ventilation pour améliorer la qualité environnementale intérieure et le confort des occupants en milieu scolaire. Université de La Rochelle,

Dick S, Friend A, Dynes K, *et al.* (2014) A systematic review of associations between environmental exposures and development of asthma in children aged up to 9 years. BMJ Open 4(11).

DIHAL (2015) Instruction interministérielle DGS/EA2/PNLHI/DHUP-PH3 no 2015-221 du 30 juin 2015 relative aux résultats de l'enquête nationale sur la lutte contre l'habitat indigne et la lutte contre le saturnisme au titre de l'année 2013 et concernant l'ouverture de l'enquête portant sur les données de l'année 2014. Délégation interministérielle à l'hébergement et à l'accès au logement. NOR : AFSP1515772J, BO Santé – Protection sociale – Solidarité n°2015/8 du 15 septembre 2015.

Domenech A, Puig C, Martí S, Santos S, Fernández A, Calatayud L, Dorca J, Ardanuy C, Liñares J (2013) Infectious etiology of acute exacerbations insevere COPD patients. Journal of Infection 67(6), 516-523.

Douwes J, Siebers R, Wouters IM, Doekes G, Fitzharris P, Crane J (2006) Endotoxin, (1→3)-β-D-glucans and fungal extra-cellular polysaccharides in New Zealand homes: A pilot study. Annals of Agricultural and Environmental Medicine 13(2), 361-365.

Eduard W. (1997) Exposure to non-infectious microorganisms and endotoxins in agriculture. Ann Agric Environ Med. 4:179-86.

Eduard W, Douwes J, Omenaas E, Heederik D (2004) Do farming exposures cause or prevent asthma? Results from a study of adult Norwegian farmers. *Thorax* 59(5), 381-386.

Eduard W (2009) Fungal spores: A critical review of the toxicological and epidemiological evidence as a basis for occupational exposure limit setting. Critical Reviews in Toxicology 39, 799-864.

Eifler J, Martinelli E, Santonico M, Capuano R, Schild D, Di Natale C (2011) Differential Detection of Potentially Hazardous Fusarium Species in Wheat Grains by an Electronic Nose. PLoS ONE 6(6), e21026.

EPA (1991) Indoor air Facts No.4 (revised). Sick Building Syndrome. U.S. Environmental Protection Agency. Air and Radiation (6609J) Research and Development (MD-5). Agence américaine de protection de l'environnement. 4 p.

EPA (2010) A Brief Guide to Mold, Moisture, and Your Home. Indoor Air Quality (IAQ). EPA 402-K-02-003 (Reprinted 09/2010). U.S. Environmental Protection Agency Office of Air and Radiation Indoor Environments Division. Agence américaine de protection de l'environnement. 20 p.

European Commission (2014) SINPHONIE - Schools Indoor Pollution & Health Observatory Network in Europe, Final report.

Ezra N, Dang K, Heuser G (2011) Improvement of attention span and reaction time with hyperbaric oxygen treatment in patients with toxic injury due to mold exposure. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 30(1), 1-6.

Faye Grimsley L, Chulada PC, *et al.* (2012) Indoor environmental exposures for children with asthma enrolled in the HEAL study, post-Katrina New Orleans. Environmental Health Perspectives 120(11), 1600-1606.

Finska Riksdagen (2013) Finska revisionsutskottets betänkande, 1/2013 rd, Finska Riksdagen. Parlement finlandais

Finska regeringen (2014) Regeringens proposition till riksdagen med förslag till lag om ändring av hälsoskyddslagen. RP 76/2014 rd, Finska regeringen. Gouvernement finlandais

Fisk WJ, Lei-Gomez Q, Mendell MJ (2007) Meta-analyses of the associations of respiratory health effects with dampness and mold in homes. Indoor Air 17(4), 284-296.

FHI (2013) Anbefalte faglige normer for inneklima Revisjon av kunnskapsgrunnlag og normer Rapport 2013:7. Nasjonalt folkehelseinstitutt (Normes techniques recommandées pour la qualité de l'air intérieur. Révision des connaissances et des normes - Institut de santé publique norvégien). [En norvégien] Traduit en anglais à la demande de l'Anses

Flamant-Hulin M, Annesi-Maesano I, Caillaud D (2013) Relationships between molds and asthma suggesting non-allergic mechanisms. A rural-urban comparison. Pediatric Allergy and Immunology 24(4), 345-351.

Flückiger B, Wanner H-U, Lüthy P (1997) 'Mikrobielle Untersuchungen von Luftansaug-Erdregistern.' (EMPA, KWH)

Fondation Abbé Pierre (2016) L'état du mal logement en France, 21ème rapport annuel, Janvier 2016

Forthomme A, Joubert A, Andrès Y, Simon X, Duquenne P, Bemer D, Le Coq L (2014) Microbial aerosol filtration: Growth and release of a bacteria-fungi consortium collected by fibrous filters in different operating conditions. Journal of Aerosol Science 72, 32-46.

Franchi M., Carrer, P, Kotzias, D, Rameckers, E, Seppänen, O, van Bronswijk, J et Viegi, G. (2004). THADE report 1: Towards healthy air in dwellings in Europe., Bruxelles : EFA Central Office.

Fujioka, K., N. Shimizu, Y. Manome, K. Ikeda, K. Yamamoto, and Y. Tomizawa. 2013. "Discrimination method of the volatiles from fresh mushrooms by an electronic nose using a trapping system and statistical standardization to reduce sensor value variation." *Sensors (Basel)* 13 (11):15532-48. doi: 10.3390/s131115532.

Gao P, Martin J (2002) Volatile metabolites produced by three strains of Stachybotrys chartarum cultivated on rice and gypsum board. *Applied Occupational and Environmental Hygiene* **17**(6), 430-436.

Gedda M (2015) Traduction française des lignes directrices PRISMA pour l'écriture et la lecture des revues systématiques et des méta-analyses. Kinésithérapie, la Revue 15(157), 39-44.

Gehring U, Heinrich J, *et al.* (2007) Bacteria and mould components in house dust and children's allergic sensitisation. European Respiratory Journal 29(6), 1144-1153.

Gent JF, Kezik JM, Hill ME, Tsai E, Li DW, Leaderer BP (2012) Household mold and dust allergens: Exposure, sensitization and childhood asthma morbidity. Environmental Research 118, 86-93.

Gergen PJ, Turkeltaub PC (1992) The association of individual allergen reactivity with respiratory disease in a national sample: Data from the second National Health and Nutrition Examination Survey, 1976-1980 (NHANES II). The Journal of Allergy and Clinical Immunology 90(4 PART 1), 579-588.

Ginestet S. (2006) Simulation dynamique des systèmes de climatisation: application aux régulations innovantes de centrales de traitement d'air. (Thèse de doctorat, Centre énergétique et procédés. École nationale supérieure des mines). Paris. 118 p.

Goh JC, Juliana J, Malina O, Ngah ZU, Norhafizalena O (2007) Prevalence of Penicillium specific Ig E level and allergy symptoms among office workers in a selected company in Bangi, Malaysia. *Trop Biomed* 24(1), 37-46

Golliot F, Annesi-Maesano I, Delmas MC, Dor F, *et al.* (2003), The French National Survey on Indoor Air Quality: sample survey design, Proceedings of ISIAQ 7th International Conference, Healthy Buildings 2003, Singapore, 7th – 11th December 2003, 712-718.

Görner P, Fabriès JF, Duquenne P, Witschger O, Wrobel R (2006) Bioaerosol sampling by a personal rotating cup sampler CIP 10-M. *Journal of Environmental Monitoring* 8(1), 43-48

Görner P, Simon X, Wrobel R, Kauffer E, Witschger O (2010) Laboratory study of selected personal inhalable aerosol samplers. *Annals of Occupational Hygiene* 54(2), 165-187.

Górny RL, Ławniczek-Wałczyk A (2012) Effect of two aerosolization methods on the release of fungal propagules from a contaminated agar surface. Annals of Agricultural and Environmental Medicine 19(2), 279-284.

Gotzsche P & Johansen HK (2008) House dust mite control measures for asthma. Cochrane Database Syst Rev 2.

Goyer N, Lavoie J (2001) Emissions of chemical compounds and bioaerosols during the secondary treatment of paper mill effluents. *American Industrial Hygiene Association Journal* 62(3), 330-341.

Guinea J, Torres-Narbona M, Gijón P, Muñoz P, Pozo F, Peláez T, de Miguel J, Bouza E (2010) Pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease: Incidence, risk factors, and outcome. Clinical Microbiology and Infection 16(7), 870-877.

Gunnbjornsdottir MI, Franklin KA, *et al.* (2006) Prevalence and incidence of respiratory symptoms in relation to indoor dampness: the RHINE study. Thorax 61(3), 221-5.

Gruber J, Nascimento HM, Yamauchi EY, Li RWC, *et al.* (2013) A conductive polymer based electronic nose for early detection of Penicillium digitatum in post-harvest oranges. *Materials Science and Engineering: C.* 33(5), 2766-2769.

Hagmolen of Ten Have W, van den Berg NJ, van der Palen J, van Aalderen WM, Bindels PJ (2007) Residential exposure to mould and dampness is associated with adverse respiratory health. Clin Exp Allergy 37(12), 1827-32.

Hamada N, Fujita T (2002) Effect of air-conditioner on fungal contamination. Atmospheric Environment 36(35), 5443-5448.

Hanak V, Golbin JM, Ryu JH (2007) Causes and presenting features in 85 consecutive patients with hypersensitivity pneumonitis. Mayo Clinic Proceedings 82(7), 812-816.

Haugland RA, Vesper SJ, Wymer LJ (1999) Quantitative measurement of Stachybotrys chartarum conidia using real time detection of PCR products with the TaqManTMfluorogenic probe system. Molecular and Cellular Probes 13(5), 329-340.

Haugland RA, Varma M, Wymer LJ, Vesper SJ (2004) Quantitative PCR analysis of selected Aspergillus, Penicillium and Paecilomyces species. Syst Appl Microbiol 27(2), 198-210.

Heiselberg PK (2002) 'Principles of hybrid ventilation.' (Aalborg Universitet)

Hernberg S, Sripaiboonkij P, Quansah R, Jaakkola JJK, Jaakkola MS (2014) Indoor molds and lung function in healthy adults. Respiratory Medicine 108(5), 677-684.

Herr Breger M. (2011) Cadre/mode de vie et symptomatology respiratoire et allergique au cours des 18 premiers mois de vie: résultats de la cohort de nouveau-nés PARIS. (thèse de doctorat, Université Paris Descartes, Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques).

Herrera ML, Vallor AC, Gelfond JA, Patterson TF, Wickes BL (2009) Strain-dependent variation in 18S ribosomal DNA Copy numbers in Aspergillus fumigatus. J Clin Microbiol 47(5), 1325-32.

Hiergeist A., Gläsner J., Reischl U. and Gessner A. (2015) Analyses of Intestinal Microbiota: Culture versus Sequencing. ILAR J 56 (2): 228-240

Hohotă R, Colda I, Enache D, Găvan M, Enache R (2008) Etude numérique des „puits canadiens" pour la diminution des consommations énergétiques liées à la ventilation des bâtiments. Proc. IBPSA France.

Holme J, Hägerhed-Engman L, Mattsson J, Sundell J, Bornehag CG (2010) Culturable mold in indoor air and its association with moisture-related problems and asthma and allergy among Swedish children. *Indoor Air* 20(4), 329-340.

Hoselton SA, Samarasinghe AE, Seydel JM, Schuh JM (2010) An inhalation model of airway allergic response to inhalation of environmental Aspergillus fumigatus conidia in sensitized BALB/c mice. Medical Mycology 48(8), 1056-1065.

Host S., Grange D., Sommen C., Chatignoux E., *et al.* (2010), Effets sanitaires et moisissures dans l'habitat, L'enquête ESMHA, pilote d'une étude épidémiologique en Île-de-France, Observatoire régional d'Île-de-France, Novembre 2010

Howden-Chapman P, Matheson A*, et al.* (2007) Effect of insulating existing houses on health inequality: Cluster randomised study in the community. *British Medical Journal* 334(7591), 460-464.

Hsu CS, Huang DJ, Lu MC (2010) Improvement of the air quality in student health centers with chlorine dioxide. International Journal of Environmental Health Research 20(2), 115-127.

Hulin M, Caillaud D, Annesi-Maesano I (2010) Indoor air pollution and childhood asthma: Variations between urban and rural areas. *Indoor Air* 20(6), 502-514.

Hulin M *et al.* (2012) Respiratory health and indoor air pollutants based on quantitative exposure assessments. *Eur Respir J* 2 ;40:1033–45.

Hulin M, Moularat S, Kirchner S, Robine E, Mandin C, Annesi-Maesano I (2013) Positive associations between respiratory outcomes and fungal index in rural inhabitants of a representative sample of French dwellings. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 216, 155-162.

Hwang BF, Liu IP, Huang TP (2011) Molds, parental atopy and pediatric incident asthma. *Indoor Air* 21(6), 472-478.

Hwang BF, Liu IP, Huang TP (2012) Gene-Environment Interaction Between Interleukin-4 Promoter and Molds in Childhood Asthma. *Annals of Epidemiology* 22(4), 250-256.

Hyvärinen A, Reponen T, Husman T, Nevalainen A (2001) Comparison of the indoor air quality in mould damaged and reference buildings in a subarctic climate. *Central European Journal of Public Health* **9**(3), 133-139.

Hyvärinen A, Kaarakainen P, Meklin T, Rintala H, *et al.* (2009) Airborne microbial levels - Associations with childhood asthma and moisture damage. In '9th International Healthy Buildings Conference and Exhibition, HB 2009', 2009, Syracuse, NY G National, U Syracuse, Carrier, Corning and Ibm

IICRC (2015) S520 Standard and Reference Guide for Professional Mold Remediation. Institute of Inspection, Cleaning and Restoration Certification.

Inal A, Karakoc GB, Altintas DU, Guvenmez HK, *et al.* (2007) Effect of indoor mold concentrations on daily symptom severity of children with asthma and/or rhinitis monosensitized to molds. Journal of Asthma 44(7), 543-546.

INSPQ (2002) Les risques à la santé associés à la présence de moisissures en milieu intérieur. ISBN 2-550-40065-8. Institut nationale de santé publique québécois. Direction des risques biologiques, environnementaux et occupationnels et laboratoire de santé publique du Québec. Novembre 2002. 159 pages.

InVS (2010) Diagnostic et prise en charge des syndromes collectifs inexpliqués. Guide technique. Kermarec F ; Heyman C ; Dor F. Institut de veille sanitaire; Département santé environnement et Cire Nord. 101 pages

InVS (2014) Impact des conditions de logement dégradées sur la santé des occupants. Congrès national santé environnement – Société française de santé environnement (SFSE) - 26 novembre 2014 Anne-Claire Colleville – InVS : Institut de veille sanitaire. Accessible en ligne : http://www.sfse.org/userfiles/files/Congres_2014/Presentations_du_congres_2014/2_3_Anne-Claire_Colleville_2014_11_26.pdf

IOM (2004) Damp indoor space and Health. Institut of medicine. Committee on Damp Indoor Space and Health. Board on Health promotion and Disease Prevention. 355 p.

Iossifova YY, Reponen T, *et al.* (2007) House dust (1-3)-β-D-glucan and wheezing in infants. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology* 62(5), 504-513.

Iossifova YY, Reponen T, Ryan PH, Levin L, *et al.* (2009) Mold exposure during infancy as a predictor of potential asthma development. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology* 102(2), 131-137.

IPCS (2009) IPCS harmonization project document n°6. Part 1: guidance document on characterizing and communicating uncertainty in exposure assessment. Part 2: hallmarks of data quality in chemical exposure assessment. International Programme on Chemical Safety. 175 p.

Irdes (2014) Enquête sur la santé et la protection sociale 2012. Nicolas Célant Stéphanie Guillaume Thierry Rochereau. LES RAPPORTS DE L'IRDES n° 556 • juin 2014. Paris

Irinyi L, Serena C, *et al.* (2015) International Society of Human and Animal Mycology (ISHAM)-ITS reference DNA barcoding database—the quality controlled standard tool for routine identification of human and animal pathogenic fungi. *Medical Mycology*. 53(4):313-37.

Islam Z, Harkema JR, Pestka JJ (2006) Satratoxin G from the black mold Stachybotrys chartarum evokes olfactory sensory neuron loss and inflammation in the murine nose and brain. Environmental Health Perspectives 114(7), 1099-1107.

ISO 846 (1997) Plastiques -- Évaluation de l'action des micro-organismes. In '846. ' 2 (Monolingue) edn. Ed. ISO) pp. 23)

ISS (2013) Strategie di monitoraggio dell'inquinamento di origine biologica dell'aria in ambiente indoor. Rapporti ISTISAN 13/37 ISSN 1123-3117. Istituto superiore di sanità (Stratégies de surveillance de la pollution d'origine biologique dans l'environnement intérieur - Institut de santé publique italien). [En italien] Traduit en français à la demande de l'Anses

Jaakkola MS, Nordman H, Piipari R, Uitti J, *et al.* (2002) Indoor dampness and molds and development of adult-onset asthma: a population-based incident case-control study. *Environmental Health Perspectives* 110(5), 543-547.

Jaakkola JJK, Hwang B-F, Jaakkola N (2005) Home Dampness and Molds, Parental Atopy, and Asthma in Childhood: A Six-Year Population-Based Cohort Study. Environmental Health Perspectives 113(3), 357-361.

Jaakkola JJK, Ieromnimon A, Jaakkola MS (2006) Interior surface materials and asthma in adults: A population-based incident case-control study. American Journal of Epidemiology 164(8), 742-749.

Jaakkola JJK, Hwang BF, Jaakkola MS (2010) Home dampness and molds as determinants of allergic rhinitis in childhood: A 6-year, population-based cohort study. American Journal of Epidemiology 172(4), 451-459.

Jaakkola MS, Haverinen-Shaughnessy U, Douwes J, Nevalainen A (2011) Indoor dampness and mould problems in homes and asthma onset in children. In 'Environmental burden of disease associated with inadequate housing. A method guide to the quantification of health effects of selected housing risks in the WHO European Region.' WHO Euopre edn. pp. 5-26.

Jaakkola MS, Quansah R, Hugg TT, Heikkinen SAM, Jaakkola JJK (2013) Association of indoor dampness and molds with rhinitis risk: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 132(5), 1099-1110.e18

Janson C, Anto J, Burney P , *et al.* (2001) The European Community Respiratory Health Survey: what are the main results so far? European Community Respiratory Health Survey II. Eur Respir J 2001 ; 18 : 598-611

Jedrychowski W, Maugeri U, *et al.* (2011) Cognitive function of 6-year old children exposed to mold-contaminated homes in early postnatal period. Prospective birth cohort study in Poland. *Physiology and Behavior* 104(5), 989-995.

Johanning E, Gareis M, Landsbergis P Mycotoxin air sampling in indoor environments (2009) - Comparison of risk assessment using Trichothecene screening test and conventional fungal identification methods. In '9th International Healthy Buildings Conference and Exhibition, HB 2009', 2009, Syracuse, NY G National, U Syracuse, Carrier, Corning and Ibm,

Johanning E, Auger P, Morey PR, Yang CS, Olmsted E (2014) Review of health hazards and prevention measures for response and recovery workers and volunteers after natural disasters, flooding, and water damage: mold and dampness. Environmental Health and Preventive Medicine 19(2), 93-99.

Johansson P, Ekstrand-Tobin A, Svensson T, Bok G (2012) Laboratory study to determine the critical moisture level for mould growth on building materials. International Biodeterioration & Biodegradation 73, 23-32.

Johansson E. & Larsson A. (2013) « När det ofarliga blir farligt: En enkätstudie om hur frekvent matöverkänslighet är bland människor i \a aldern 18-28 \a ar i Sverige. »

Johansson P, Ekstrand-Tobin A, Bok G (2014) An innovative test method for evaluating the critical moisture level for mould growth on building materials. Building and Environment 81, 404-409.

Jones R, Recer GM, Hwang SA, Lin S (2011) Association between indoor mold and asthma among children in Buffalo, New York. *Indoor Air* **21**(2), 156-164.

Kanchongkittiphon W, Mendell MJ, Gaffin JM, Wang G, Phipatanakul W (2015) Indoor environmental exposures and exacerbation of asthma: An update to the 2000 review by the institute of medicine. Environmental Health Perspectives 123(1), 6-20.

Karlshøj K, Nielsen PV, Larsen TO (2007) Differentiation of Closely Related Fungi by Electronic Nose Analysis. *Journal of Food Science* 72(6), M187-M192.

Karvala K, Toskala E, Luukkonen R, Lappalainen S, Uitti J, Nordman H (2010) New-onset adult asthma in relation to damp and moldy workplaces. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 83(8), 855-865.

Karvala K, Toskala E, Luukkonen R, Uitti J, Lappalainen S, Nordman H (2011) Prolonged exposure to damp and moldy workplaces and new-onset asthma. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 84(7), 713-721.

Karvala K, Uitti J, Luukkonen R, Nordman H (2013) Quality of life of patients with asthma related to damp and moldy work environments. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health* 39(1), 96-105.

Karvala K, Nordman H, Luukkonen R, Uitti J (2014) Asthma related to workplace dampness and impaired work ability. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 87(1), 1-11.

Karvonen AM, Hyvarinen A, Roponen M, Hoffmann M, Korppi M, Remes S, von Mutius E, Nevalainen A, Pekkanen J (2009) Confirmed moisture damage at home, respiratory symptoms and atopy in early life: a birth-cohort study. Pediatrics 124(2), e329-38.

Kennedy N.J., Tatyan K., and Hinds W. C. (2001). Comparison of a simplified and full-size mannequin for the evaluation of inhalable sampler performance. *Aerosol Science and Technology* 35 (1):564-568.

Kenny L.C., Aitken R., Chalmers C., Fabriès J. F, E. *et al.* (1997). "A collaborative european study of personal inhalable aerosol sampler performance." *Annals of Occupational Hygiene* 41 (2):135-153. doi: 10.1016/S0003-4878(96)00034-8.

Kercsmar CM, Dearborn DG, Schluchter M, Xue L, Kirchner HL, Sobolewski J, Greenberg SJ, Vesper SJ, Allan T (2006) Reduction in asthma morbidity in children as a result of home remediation aimed at moisture sources. Environmental health perspectives, 1574-1580.

Khasawneh F, Mohamad T, Moughrabieh MK, Lai Z, Ager J, Soubani AO (2006) Isolation of Aspergillus in critically ill patients: a potential marker of poor outcome. *Journal of Critical Care* 21(4), 322-327.

Korpi A, Järnberg J, Pasanen AL (2009) Microbial volatile organic compounds. *Critical Reviews in Toxicology* 39(2), 139-193.

Krus, M., and K. Sedlbauer. 2007. "A new model for prediction and its application in practice." 6th International Conference on Indoor Air Quality, Ventilation and Energy Conservation in Buildings: Sustainable Built Environment, IAQVEC 2007, Sendai. pp. 1035-1042

Lacroix S. (2011) La suroccupation des résidences principales par aire d'occupation, Insee, Commissariat général au développement durable, service de l'observation et des statistiques, Indicateurs territorial de développement durable, Février 2011

Lagier JC, Armougom F, *et al.* (2012) Microbial culturomics: paradigm shift in the human gut microbiome study. Clinical Microbiology and Infection 18(12), 1185-1193.

Lalande E. (2010) L'humidité dans les logements touchait un ménage sur cinq en 2006, Commissariat général qu développement durable Observations et statistiques Septembre 2010

Lang-Yona N, Levin Y, Dannemiller KC, Yarden O, Peccia J, Rudich Y (2013) Changes in atmospheric CO2 influence the allergenicity of Aspergillus fumigatus. Global Change Biology 19(8), 2381-2388.

Larsson M, Hagerhed-Engman L, Moniruzzaman S, Janson S, Sundell J, Bornehag CG (2011) Can we trust cross-sectional studies when studying the risk of moisture-related problems indoor for asthma in children? Int J Environ Health Res 21(4), 237-47.

Leino MS, Alenius HT, Fyhrquist-Vanni N, Wolff HJ, Reijula KE, Hintikka EL, Salkinoja-Salonen MS, Haahtela T, Mäkelä MJ (2006) Intranasal exposure to Stachybotrys chartarum enhances airway inflammation in allergic mice. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 173(5), 512-518.

Ledésert B. (2013), Liens entre précarité énergétique et santé analyse conjointe des enquêtes réalisées dans l''Hérault et le Douaisis, CREAI-ORS Languedoc-Roussillon, Novembre 2013

LHVP. 2014. Lignes directrices applicables à l'élimination d'une contamination fongique en environnement intérieur.

Li S.N., Lundgren D. A. and Rovell-Rixx D. (2000). Evaluation of six inhalable aerosol samplers. *American Industrial Hygiene Association Journal* 61 (4):506-516.

Lichtenstein JHR, Molina RM, Donaghey TC, Brain JD (2006) Strain differences influence murine pulmonary responses to Stachybotrys chartarum. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology 35(4), 415-423.

Lichtenstein Rosenblum JH, Molina RM, Donaghey TC, Amuzie CJ, Pestka JJ, Coull BA, Brain JD (2010) Pulmonary responses to Stachybotrys chartarum and its toxins: Mouse strain affects clearance and macrophage cytotoxicity. Toxicological Sciences 116(1), 113-121.

Lignell U, Meklin T, Putus T, Rintala H, Vepsäläinen A, Kalliokoski P, Nevalainen A (2007) Effects of moisture damage and renovation on microbial conditions and pupils' health in two schools—a longitudinal analysis of five years. Journal of Environmental Monitoring 9(3), 225-233.

Liu Z, Li A, Hu Z, Sun H (2014) Study on the potential relationships between indoor culturable fungi, particle load and children respiratory health in Xi'an, China. Building and Environment 80, 105-114.

Lortholary O, Gangneux JP, Sitbon K, Lebeau B, de Monbrison F, Le Strat Y, Coignard B, Dromer F, Bretagne S (2011) Epidemiological trends in invasive aspergillosis in France: the SAIF network (2005–2007). Clinical Microbiology and Infection 17(12), 1882-1889

Lucas F, Adelard L, Garde F, Boyer H (2002) Study of moisture in buildings for hot humid climates. Energy and Buildings 34(4), 345-355.

Lucas J-P., Ramalho O., Kirchner S., Ribéron J. (2009) Etat de la ventilation dans le parc de logements francais OQAI.

Malchaire J, Chasseur C, Nolard N. Sick building syndrome : analyse et prévention (2e édition). Bruxelles: Institut national de recherche sur les conditions de travail; 2001.

Månsson L-GE (1995) Evaluation and Demonstration of Domestic Ventilation Systems: State of the Art. IEA, Energy Conservation in Buildings and Community Systems Program. Annex 27. Swedish Council for Building Research International energy agency, No. Report A12.

McCrae KC, Rand TG, Shaw RA, Mantsch HH, Sowa MG, Thliveris JA, Scott JE (2007) DNA fragmentation in developing lung fibroblasts exposed to Stachybotrys chartarum (atra) toxins. Pediatric Pulmonology 42(7), 592-599.

McDevitt J, Lees PJ, Merz W, Schwab K (2004) Development of a method to detect and quantify Aspergillus fumigatus conidia by quantitative PCR for environmental air samples. Mycopathologia 158(3), 325-335.

Marín S, Vinaixa M, Brezmes J, Llobet E, *et al.* (2007) Use of a MS-electronic nose for prediction of early fungal spoilage of bakery products. International Journal of Food Microbiology 114(1), 10-16.

Martignon G, Catteau C, Debotte G, Duffaud B, Lebot F, Annesi-Maesano I (2004) Childhood allergies in Reunion Island: Is there any difference with metropolitan France? *Revue d'Epidemiologie et de Sante Publique* 52(2), 127-137.

Martin K, Rygiewicz P (2005) Fungal-specific PCR primers developed for analysis of the ITS region of environmental DNA extracts. BMC Microbiology 5(1), 28

Méheust D. (2012) Exposition aux moisissures en environnement intérieur : methodes de mesure et impacts sur la sante. (thèse de doctorat en biologie et science de la santé, Université Rennes 1). Rennes. En ligne au https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00768444/document.

Mendell MJ, Mirer AG, Cheung K, Tong M, Douwes J (2011) Respiratory and allergic health effects of dampness, mold, and dampness-related agents: A review of the epidemiologic evidence. Environmental Health Perspectives 119(6), 748-756.

Meng J, Barnes CS, Rosenwasser LJ (2012) Identity of the fungal species present in the homes of asthmatic children. *Clinical and Experimental Allergy* 42(10), 1448-1458.

Miljömedicin If (2013) Miljöhälsorapport 2013. Karolinska institutet.

Ministère de l'éducation, du loisir et du sport - Québec (2014a) La qualité de l'air dans les établissements scolaires. Document de référence. 32 pages. Accessible en ligne : http://www.education.gouv.qc.ca/fileadmin/site_web/documents/reseau/infrastructures/Guide_moisissures.pdf

Ministère de l'éducation, du loisir et du sport (2014b) Gestion de la prolifération des moisissures en milieu scolaire. Responsabilités et bonnes pratiques. Prévention, investigation et décontamination. Guide. Accessible en ligne : http://www.education.gouv.qc.ca/fileadmin/site_web/documents/reseau/infrastructures/Guide_moisissures.pdf

Moularat S, Robine E, Ramalho O, Oturan MA (2008) Detection of fungal development in a closed environment through the identification of specific VOC: demonstration of a specific VOC fingerprint for fungal development. *Sci Total Environ* 407(1), 139-46.

Moularat S, Hulin M, Robine E, Annesi-Maesano I, Caillaud D (2011) Airborne fungal volatile organic compounds in rural and urban dwellings. Detection of mould contamination in 94 homes determined by visual inspection and airborne fungal volatile organic compounds method. Science of the Total Environment 409(11), 2005-2009.

Mounouchy M-A, Cordeau L, Raherison C (2009) Prévalence de l'asthme et des symptômes évocateurs chez les adolescents guadeloupéens selon l'enquête ISAAC, phase I, en 2003. Revue des Maladies Respiratoires 26, 944–951.

Mudarri, D. et Fisk, W. J. (2007) Public health and economic impact of dampness and mold », Indoor Air, 17 (3): 226235.

Murray CJL, Lopez AD (1997) Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. Lancet 349(9064), 1498-1504.

New York City (2008) Guidelines on assessment and remediation of fungi in indoor environments Department of Health and Mental Hygiene.

Nagayoshi M, Tada Y, *et al.* (2011) Inhalation of Stachybotrys chartarum Evokes Pulmonary Arterial Remodeling in Mice, Attenuated by Rho-Kinase Inhibitor. Mycopathologia 172(1), 5-15.

NEG (2006a) The Nordic Expert Group for Criteria Documentation of Health Risks from Chemicals 138. Microbial volatile organic compounds (MVOCs) Anne Korpi, Jill Järnberg and Anna-Liisa Pasanen nr 2006:13 National Institute for Working life. Stockholm, Sweden. 84 pages.

NEG (2006b) The Nordic Expert Group for Criteria Documentation of Health Risks from Chemicals. 139. Fungal spores Wijnand Eduard. nr 2006:21 National Institute for Working life. Stockholm, Sweden. 153 pages.

NF EN 1822 – 5 parties - Filtres à air à haute efficacité (EPA, HEPA et ULPA)

NF EN 13098 Décembre 2000 Atmosphères des lieux de travail - Règles pour le mesurage de micro-organismes et d'endotoxine en suspension dans l'air

NF EN 13725 Octobre 2003, « Qualité de l'air - Détermination de la concentration d'une odeur par olfactométrie dynamique

NF EN 15101-1 Janvier 2014 Produits isolants thermiques destinés aux applications du bâtiment - Isolation thermique formée en place à base de cellulose (LFCI) - Partie 1 : spécification des produits en vrac avant la mise en oeuvre

NF ISO 16000-16 Février 2009. Air intérieur - Partie 16 : détection et dénombrement des moisissures - Échantillonage par filtration

NF ISO 16000-17 Février 2009. Air intérieur - Partie 17 : détection et dénombrement des moisissures - Méthode par culture

NF ISO 16000-18 Septembre 2011. Air intérieur - Partie 18 : détection et dénombrement des moisissures - Échantillonnage par impaction -

NF EN ISO 16000-19 Novembre 2014. Air intérieur - Partie 19 : stratégie d'échantillonnage des moisissures

NF ISO 16000-20 Mars 2015. Air intérieur - Partie 20 : détection et dénombrement des moisissures - Détermination du nombre total de spores - Air intérieur - Détection et dénombrement des moisissures - Partie 20 : détermination du nombre total de spores

NF ISO 16000-21 Février 2014. Air intérieur - Partie 21 : détection et dénombrement des moisissures - Échantillonnage à partir de matériaux -

Nilsson A, Kihlström E, Lagesson V, Wessén B, *et al.* (2004) Microorganisms and volatile organic compounds in airborne dust from damp residences. *Indoor Air* 14(2), 74-82.

Norbäck D, Zock JP, *et al.* (2011) Lung function decline in relation to mould and dampness in the home: The longitudinal European Community Respiratory Health Survey ECRHS II. Thorax 66(5), 396-401.

Norbäck D, Zock JP, *et al.* (2013) Mould and dampness in dwelling places, and onset of asthma: The population-based cohort ECRHS. Occupational and Environmental Medicine 70(5), 325-331.

Noss I., Wouters I.M., Visser M., Heederik D.J.J, P. *et al.* (2008). Evaluation of a low-cost electrostatic dust fall collector for indoor air endotoxin exposure assessment. *Applied and Environmental Microbiology* 74 (18):5621-5627. doi: 10.1128/AEM.00619-08.

Nunez M, Sivertsen MS, Mattsson J Substrate and construction preferences for Actinomycetes and 20 mould genera. In '10th International Conference on Healthy Buildings 2012', 2012, Brisbane, QLD, pp. 1312-1317

NYC (2008) Guidelines on Assessment and Remediation of Fungi in Indoor Environments - New York City. Department of Health and Mental Hygiene. November 2008. Ville de New York (Département de Santé et d'Hygiène Mental) 25p.

Ochiai E, Kamei K, Watanabe A, Nagayoshi M, Tada Y, Nagaoka T, Sato K, Sato A, Shibuya K (2008) Inhalation of Stachybotrys chartarum causes pulmonary arterial hypertension in mice. International Journal of Experimental Pathology 89(3), 201-208.

Ojanen T, Viitanen H, Peuhkuri R, Lähdesmäki K, Vinha J, Salminen K (2010) Mold growth modeling of building structures using sensitivity classes of materials. In 'Thermal Performance of the Exterior Envelopes of Whole Buildings - 11th International Conference', 2010

Ojanen T, Peuhkuri R, Viitanen H, Lähdesmäki K, Vinha J, Salminen K (2011) Classification of material sensitivity–new approach for mould growth modeling. In '9th Nordic Symposium on Building Physics, NSB', pp. 867-874

OMS (1983) WHO Regional Office for Europe. Indoor air pollutants: exposure and health effects. Euro reports and studies n° 78. Copenhague: World Health Organisation Regional Office for Europe; 1983.

OMS (2004) Mould and moisture. WHO Europe

OMS (2007) Large analysis and review of European housing and health status (LARES). WHO, WHO Europe Copenhagen.

OMS (2009) WHO guidelines for indoor air quality. Dampness and Mould. Organisation mondiale de la santé. 228 p.

OMS (2010) Environment and health risks: a review of the influences and effects of social inequalities. WHO, Copenhagen.

OMS (2010) Technical and policy recommendations to reduce health risks due to dampness and mould. Project Report. Organisation mondiale de la santé. 129 p.

OMS (2011a) Environmental burden of disease associated with inadequate housing. A method guide to the quantification of health effects of selected housing risks in the WHO European Region. Matthias Braubach, David E. Jacobs, David Ormandy. Organisation mondiale de la santé. 238 p.

OMS (2011b) Methods for monitoring indoor air quality in schools. Report of a meeting Bonn, Germany. 4 - 5 April 2011. Organisation mondiale de la santé. 32 pages

ONPE (2014) Rapport de synthèse : définitions, indicateurs, premiers résultats et recommandations. ONPE. Accessible en ligne : http://www.anah.fr/fileadmin/anah/Actualites_presse/2014/ONPE-RapportSynthese.pdf

ONPE (2015), Les chiffres clés de la précarité énergétique, Les études de l'Observatoire national de la précarité énergétique, Avril 2015

OQAI (2009). Etat de la ventilation dans le parc de logements français. Rapport d'étude. Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB) Division Santé Pôle Expologie des Environnements Intérieurs DESE/SB – 2009-037. Juin 2009. Observatoire de la qualité de l'air intérieur. 84 p.

Osborne M, Reponen T, Adhikari A, Cho SH, Grinshpun SA, Levin L, Bernstein DI, LeMasters G (2006) Specific fungal exposures, allergic sensitization, and rhinitis in infants. Pediatric Allergy and Immunology 17(6), 450-457.

Oreszczyn T, Ridley I, Hong SH, Wilkinson P (2006) Mould and winter indoor relative humidity in low income households in England. Indoor and Built Environment 15(2), 125-135.

ORS Réunion (2011) L'asthme à La Réunion. ORS - Observatoire régional de la santé La Réunion.

Pacioni G, Cerretani L, Procida G, Cichelli A (2014) Composition of commercial truffle flavored oils with GC–MS analysis and discrimination with an electronic nose. Food Chemistry 146, 30-35.

Pallottino F, Costa C, Antonucci F, Strano MC, *et al.* (2012) Electronic nose application for determination of Penicillium digitatum in Valencia oranges. Journal of the Science of Food and Agriculture 92(9), 2008-2012.

Palumbo, Mariana. 2015. "Contribution to the development of new bio-based thermal insulation materials made from vegetal pith and natural binders: hygrothermal performance, fire reaction and mould growth resistance." Universitat Politècnica de Catalunya.

Pandey S, Hoselton SA, Schuh JM (2013) The impact of aspergillus fumigatus viability and sensitization to its allergens on the murine allergic asthma phenotype. BioMed Research International 2013.

Park JH, Cox-Ganser JM, Kreiss K, White SK, Rao CY (2008) Hydrophilic fungi and ergosterol associated with respiratory illness in a water-damaged building. Environmental Health Perspectives 116(1), 45-50.

Park JH, Kreiss K, Cox-Ganser JM (2012) Rhinosinusitis and mold as risk factors for asthma symptoms in occupants of a water-damaged building. Indoor Air 22(5), 396-404.

Pekkanen J, Hyvärinen A, Haverinen-Shaughnessy U, Korppl M, Putus T, Nevalainen A (2007) Moisture damage and childhood asthma: A population-based incident case-control study. European Respiratory Journal 29(3), 509-515.

Peters JL, Muilenberg ML, Rogers CA, Burge HA, Spengler JD (2008) Alternaria measures in inner-city, low-income housing by immunoassay and culture-based analysis. Annals of Allergy, Asthma and Immunology 100(4), 364-369.

Piecková E, Hurbánková M, Černá S, Pivovarová Z, Kováčiková Z (2006) Pulmonary cytotoxicity of secondary metabolites of Stachybotrys chartarum (Ehrenb.) Hughes. Annals of Agricultural and Environmental Medicine 13(2), 259-262.

Piecková E, Hurbánková M, Černá S, Lišková A, *et al.* (2009) Inflammatory and haematotoxic potential of indoor stachybotrys chartarum (Ehrenb.) hughes metabolites. Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju 60(4), 401-409.

Piecková E, Hurbánková M, Černá S, Majorošová M, *et al.* (2011) Respiratory toxicity of aspergillus versicolor: The most common indoor mould in Slovakia. In '6th Int. Conf. on the Impact

of Environmental Factors on Health, and 9th Int. Conf. on Modelling in Medicine and Biology - Environmental Health Risk 2011, EHR 2011', 2011, Riga WITTo Biomedicine and Health, pp. 135-145

Pietarinen V-M, Rintala H, Hyvarinen A, Lignell U, Karkkainen P, Nevalainen A (2008) Quantitative PCR analysis of fungi and bacteria in building materials and comparison to culture-based analysis. Journal of Environmental Monitoring 10(5), 655-663.]

Pihet M, Carrere J, Cimon B, Chabasse D, Delhaes L, Symoens F, Bouchara JP (2009) Occurrence and relevance of filamentous fungi in respiratory secretions of patients with cystic fibrosis - A review. *Medical Mycology* 47(4): 387-397.

Pitkaranta M, Meklin T, Hyvarinen A, Paulin L, *et al.* (2008) Analysis of fungal flora in indoor dust by ribosomal DNA sequence analysis, quantitative PCR, and culture. *Appl Environ Microbiol* 74(1), 233-44.

Pitkaranta M, Meklin T, Hyvarinen A, Nevalainen A, *et al.* (2011) Molecular profiling of fungal communities in moisture damaged buildings before and after remediation--a comparison of culture-dependent and culture-independent methods. *BMC Microbiol* 11, 235.

Palomäki E, Reijula K (2008) Evaluating the success of damp building remediation. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health, Supplement*(4), 35-38

Pongracic JA, O'Connor GT, *et al.* (2010) Differential effects of outdoor versus indoor fungal spores on asthma morbidity in inner-city children. Journal of Allergy and Clinical Immunology 125(3), 593-599.

Prat L (2012) Qualité de l'air intérieur des locaux de travail et autres lieux de vie : cadre réglementaire national. . Technique de l'ingénieur base documentaire : TIB436DUO.

Prester, Indoor Exposure To Mould Allergens Arh Hig Rada Toksikol 2011;62:371-380 NS

Pricope D, Deneuville E, Frain S, Chevrier S, Belaz S, Roussey M, Gangneux JP (2015) Indoor fungal exposure: What impact on clinical and biological status regarding Aspergillus during cystic fibrosis. Journal de Mycologie Medicale 25(2), 136-142.

Quansah R, Jaakkola MS, Hugg TT, Heikkinen SA, Jaakkola JJ (2012) Residential dampness and molds and the risk of developing asthma: a systematic review and meta-analysis. PLoS ONE 7(11), e47526.

Quénel P, Flamnad C, Delmas MC, others Prévalence de l'asthme en Martinique: résultats de l'enquête ESCAL. Bulletin d'Alerte et de Surveillance Antilles Guyane 8, 7–10.

Rabe KF, Hurd S, *et al.* (2007) Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 176(6), 532-555.

Raherison C (2006) L'asthme à l'île de la Réunion. Quels enseignements pour la métropole ? Revue des Maladies Respiratoires 23, 23-25.

Rao CY, Burge HA, Chang JCS (1996) Review of Quantitative Standards and Guidelines for Fungi in Indoor Air. *Journal of the Air & Waste Management Association* 46(9), 899-90

Rao CY, Riggs MA, Chew GL, Muilenberg ML, *et al.* (2007) Characterization of airborne molds, endotoxins, and glucans in homes in New Orleans after Hurricanes Katrina and Rita. Applied and Environmental Microbiology 73(5), 1630-1634.

Reponen T, Vesper S, *et al.* (2011) High environmental relative moldiness index during infancy as a predictor of asthma at 7 years of age. Annals of Allergy, Asthma and Immunology 107(2), 120-126.

Reponen T, Lockey J, *et al.* (2012) Infant origins of childhood asthma associated with specific molds. Journal of Allergy and Clinical Immunology 130(3), 639-644.e5.

Reponen T, Levin L, Zheng S, Vesper S, Ryan P, Grinshpun SA, LeMasters G (2013) Family and home characteristics correlate with mold in homes. Environmental Research 124, 67-70.

Richardson MD (2005) Changing patterns and trends in systemic fungal infections. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 56(SUPPL. 1), i5-i11.

Ritschkoff A, Viitanen H, Koskela K (200) The response of building materials to the mould exposure at different humidity and temperature conditions. In 'Proceedings of healthy buildings', pp. 317-322

Rittenour WR, Ciaccio CE, Barnes CS, Kashon ML, *et al.* (2014) Internal transcribed spacer rRNA gene sequencing analysis of fungal diversity in Kansas City indoor environments. Environmental Sciences: Processes and Impacts 16(1), 33-43.

RIVM (2012) GGD-richtlijn medische milieukunde Schimmel- en vochtproblemen in woningen. RIVM Rapport 609300022/2012. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (Directive du GGD sur la santé environnementale. Problèmes de moisissure et d'humidité dans les habitations – Institut National de Santé Publique et Environnement néerlandais) [En néerlandais] Traduit en français à la demande de l'Anses

Rocchi S, Richaud-Thiriez B, Barrera C, Grenouillet F, Dalphin JC, Millon L, Reboux G. Evaluation of mold exposure in cystic fibrosis patients' dwellings and allergic bronchopulmonary risk. J Cyst Fibros. 2015;14(2):242-7.

Rocchi S, Reboux G, *et al.* (2015) Microbiological characterization of 3193 French dwellings of Elfe cohort children. Science of The Total Environment 505, 1026-1035.

Roussel S, Reboux G, Bellanger AP, Sornin S, *et al.* (2008) Characteristics of dwellings contaminated by moulds. Journal of Environmental Monitoring 10(6), 724-729.

Roussel S, Reboux G, Millon L, Parchas MD, *et al.* (2012) Microbiological evaluation of ten French archives and link to occupational symptoms. *Indoor Air* 22(6), 514-522.

Rosenbaum PF, Crawford JA, *et al.* (2010) Indoor airborne fungi and wheeze in the first year of life among a cohort of infants at risk for asthma. Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology 20(6), 503-515.

Rowan NJ, Johnstone CM, McLean RC, Anderson JG, Clarke JA (1999) Prediction of toxigenic fungal growth in buildings by using a novel modelling system. Applied and environmental microbiology 65(11), 4814-4821.

Russell M, Sherman M, Rudd A (2007) Review of residential ventilation technologies. Hvac&R Research 13(2), 325-348.

Sahlberg B, Mi YH, Norback D (2009) Indoor environment in dwellings, asthma, allergies, and sick building syndrome in the Swedish population: a longitudinal cohort study from 1989 to 1997. Int Arch Occup Environ Health 82(10), 1211-8.

Sahlberg B, Wieslander G, Norbäck D (2010) Sick building syndrome in relation to domestic exposure in Sweden--a cohort study from 1991 to 2001. Scandinavian journal of public health 38(3), 232-238.

Salo PM, Arbes SJ, Sever M, Jaramillo R, Cohn RD, London SJ, Zeldin DC (2006) Exposure to Alternaria alternata in US homes is associated with asthma symptoms. *The Journal of allergy and clinical immunology* 118(4), 892-898.

Sánchez B, Sánchez-Muñoz M, Muñoz-Vicente M, Cobas G, Portela R, Suárez S, González AE, Rodríguez N, Amils R (2012) Photocatalytic elimination of indoor air biological and chemical pollution in realistic conditions. Chemosphere 87(6), 625-630.

Santé Canada (2004) Fungal contamination in public buildings: health effects and investigation methods. pp. 49 p. http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt_formats/hecs-sesc/pdf/pubs/air/fungal-fongique/fungal-fongique-eng.pdf

Santé Canada (2007) Lignes directrices sur la qualité de l'air intérieur résidentiel : Moisissures. ISBN : 978-0-662-09077-9. http://canadiensensante.gc.ca/publications/healthy-living-vie-saine/mould-moisissure/index-fra.php

Santé Canada (2011) Populations vulnérables. Dossier du site internet Santé de l'environnement et du milieu de travail > Contaminants environnementaux (http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/contaminants/vulnerable/index-fra.php, accédé en janvier 2016).

Santé Canada (2014). Prendre en charge des problèmes d'humidité et de moisissure dans votre demeure. Dossier du site internet du gouvernement Santé > Publications > Vie saine. http://canadiensensante.gc.ca/publications/healthy-living-vie-saine/mould-home-maison-moisissure/index-fra.php, accédé en janvier 2016).

Sapet A, Normand AC, Oudyi M, Le Bel NS, Piarroux R, Dubus JC (2015) Is the home environment an important factor in the occurrence of fungal events in cystic fibrosis? *Journal of Cystic Fibrosis* 14(5), E16-E18.

Sauni R, Verbeek JH, Uitti J, Jauhiainen M, Kreiss K, Sigsgaard T (2015) Remediating buildings damaged by dampness and mould for preventing or reducing respiratory tract symptoms, infections and asthma. Cochrane Database Syst Rev 2, Cd007897.

Scherer E, Rocchi S, Reboux G, Vandentorren S, Roussel S, Vacheyrou M, Raherison C, Millon L (2014) QPCR standard operating procedure for measuring microorganisms in dust from dwellings in large cohort studies. Science of the Total Environment 466-467, 716-724

Schmid S, Jecklin MC, Zenobi R (2010) Degradation of volatile organic compounds in a non-thermal plasma air purifier. Chemosphere 79(2), 124-130.

Schmit P. (2012) Rénovation urbaine et habitat indigne dans les DOM. Conseil Général de l'Environnement et du Developpement Durable.

Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, Robert V, Spouge JL, Levesque CA, Chen W, Consortium FB (2012) Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109(16), 6241-6246.

Schram-Bijkerk D, Doekes G, *et al.* (2005) Bacterial and fungal agents in house dust and wheeze in children: The PARSIFAL study. *Clinical and Experimental Allergy* 35(10), 1272-1278.

Schroer KT, Biagini Myers JM, *et al.* (2009) Associations between Multiple Environmental Exposures and Glutathione S-transferase P1 on Persistent Wheezing in a Birth Cohort. Journal of Pediatrics 154(3), 401-408.e1.

Schuchardt S, Kruse H (2009) Quantitative volatile metabolite profiling of common indoor fungi: Relevancy for indoor air analysis. *Journal of Basic Microbiology* 49(4), 350-362

Schütze N, Lehmann I, Bönisch U, Simon JC, Polte T (2010) Exposure to mycotoxins increases the allergic immune response in a murine asthma model. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 181(11), 1188-1199.

Schmid S, Jecklin MC, Zenobi R (2010) Degradation of volatile organic compounds in a non-thermal plasma air purifier. Chemosphere 79(2), 124-130.

Sedlbauer K (2001) Prediction of mould fungus formation on the surface of and inside building components. Fraunhofer Institute for Building Physics. 247 p. Accessible en ligne : http://www.ibp.fraunhofer.de/content/dam/ibp/en/documents/ks_dissertation_etcm1021-30729.pdf

SF2H (2000) Texte court. Référentiels. Prévention du risque aspergillaire chez les patients immunodéprimés (hématologie, transplantation). 7p.

SF2H (2011) Guide Risque infectieux fongique et travaux en établissement de santé. Identification du risque et mise en place de mesures de gestion. Société Française d'Hygiène Hospitalière. *Hygienes*. Volume XIX - N° 1 - Mars 2011. 56 p.

Sharpe RA, Bearman N, Thornton CR, Husk K, Osborne NJ (2015a) Indoor fungal diversity and asthma: a meta-analysis and systematic review of risk factors. *J Allergy Clin Immunol* **135**(1), 110-22

Sharpe RA, Thornton CR, Nikolaou V, Osborne NJ (2015b) Fuel poverty increases risk of mould contamination, regardless of adult risk perception & ventilation in social housing properties. Environment International 79, 115-129.

Shenassa ED, Daskalakis C, Liebhaber A, Braubach M, Brown M (2007) Dampness and mold in the home and depression: An examination of mold-related illness and perceived control of one's home as possible depression pathways. American Journal of Public Health 97(10), 1893-1899.

Shendell DG, Mizan SS, Yamamoto N, Peccia J (2012) Associations between Quantitative Measures of Fungi in Home Floor Dust and Lung Function among Older Adults with Chronic Respiratory Disease: A Pilot Study. Journal of Asthma 49(5), 502-509.

Shoemaker RC, House DE (2006) Sick building syndrome (SBS) and exposure to water-damaged buildings: Time series study, clinical trial and mechanisms. Neurotoxicology and Teratology 28(5), 573-588

Simoni M, Cai GH*, et al.* (2011) Total viable molds and fungal DNA in classrooms and association with respiratory health and pulmonary function of European schoolchildren. *Pediatric Allergy and Immunology* 22(8), 843-852.

Smedje, Greta. 2009. « Innemiljön i svenska skolor », ÖREBRO 2009.

Socialstyrelsen et Karolinska Institutet. 2009. Miljöhälsorapport 2009, Stockholm

Solet J-L, Catteau C, Nartz E, Ronat J, Delmas M-C (2006) Epidémiologie de l'asthme à La Réunion : analyse de la mortalité (1990 -1998) et de la morbidité hospitalière (1998-2002). Bull Epidemio Hebdo, 232-234.

SWESIAQ (2014) SWESIAQ:s råd för utredning av mikrobiell påväxt i byggnader Ver. 16 2014-12-03. (Recommandations de SWESIAQ pour l'investigation de la prolifération microbienne dans les bâtiments – Société savante suédoise - International Society of Indoor Air Quality and Climate) [En suédois] Traduit en français à la demande de l'Anses

Takigawa T, Wang BL, Sakano N, Wang DH, Ogino K, Kishi R (2009) A longitudinal study of environmental risk factors for subjective symptoms associated with sick building syndrome in new dwellings. Science of the Total Environment 407(19), 5223-5228.

Thomson A, Walker P (2014) Durability characteristics of straw bales in building envelopes. Construction and Building Materials 68, 135-141.

Tiotiu A, Metz-Favre C, Reboux G, Kessler R, de Blay F (2013) Hypersensitivity pneumonitis related to Penicillium chrysogenum and mesophilic Streptomyces: The usefulness of the Medical Indoor Environment Councelor (MIEC). Revue de Pneumologie Clinique 69(5), 278-282.

Tischer C, Gehring U, *et al.* (2011a) Respiratory health in children, and indoor exposure to (1,3)-beta-D-glucan, EPS mould components and endotoxin. *Eur Respir J* 37(5), 1050-9.

Tischer C, Chen CM, Heinrich J (2011a) Association between domestic mould and mould components, and asthma and allergy in children: A systematic review. European Respiratory Journal 38(4), 812-824.

Tischer CG, Hohmann C, *et al.* (2011b) Meta-analysis of mould and dampness exposure on asthma and allergy in eight European birth cohorts: An ENRIECO initiative. Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology 66(12), 1570-1579.

Tischer C, Gehring U, *et al.* (2011c) Respiratory health in children, and indoor exposure to (1,3)-beta-D-glucan, EPS mould components and endotoxin. Eur Respir J 37(5), 1050-9.

Torén, Kjell, Albin, Maria et Järvholm, Bengt. 2010. Systematiska kunskapsöversikter; 1. Betydelsen av fukt och mögel i inomhusmiljö för astma hos vuxnaArbets-och miljömedicin, Göteborgs universitet.

Trugeon A (2006) Psychological aspects of moulds: concerning extreme cases, inundation in the Somme valley. Revue Francaise d'Allergologie et d'Immunologie Clinique 46(3), 204-207.

UBA (2005) Leitfaden zur Ursachensuche und Sanierung bei Schimmelpilzwachstum in Innenräumen. Umweltbundesamt (agence de l'environnement allemande). [En allemand] Traduit en français à la demande de l'Anses

VDI (2008) VDI 4300 Blatt 10 Measurement of indoor air pollution - Measurement strategies for determination of mould fungi in indoor environment 2008-07. Verein Deutscher Ingenieure (association des ingénieurs allemands)

Vereecken E, Roels S (2012) Review of mould prediction models and their influence on mould risk evaluation. Building and Environment 51, 296-310.

Vesper S, McKinstry C, Haugland R, Wymer L, *et al.* (2007) Development of an environmental relative moldiness index for US homes. *Journal of Occupational and Environmental Medicine* 49(8), 829-833.

Vesper S, McKinstry C, Haugland R, Neas L, *et al.* (2008) Higher Environmental Relative Moldiness Index (ERMIsm) values measured in Detroit homes of severely asthmatic children. *Science of the Total Environment* 394(1), 192-196.

Vesper S (2011a) Traditional mould analysis compared to a DNA-based method of mould analysis. *Critical Reviews in Microbiology* 37(1), 15-24.

Vesper S., Wakefield J., Ashley P., *et al.* (2011b). Geographic Distribution of Environmental Relative Moldiness Index Molds in USA Homes, *Journal of Environmental and Public Health*, p. e242457.

Vermeulen E, Verhaegen J, Indevuyst C, Lagrou K (2012) Update on the Evolving Role of MALDI-TOF MS for Laboratory Diagnosis of Fungal Infections. Current Fungal Infection Reports 6(3), 206-214.

Viitanen H, Hanhijärvi A, Hukka A, Koskela K Modelling mould growth and decay damages. In 'Proceedings of Healthy Buildings', 2000, pp. 341-346

Viitanen H, Vinha J, Salminen K, Ojanen T, Peuhkuri R, Paajanen L, Lähdesmäki K (2010) Moisture and bio-deterioration risk of building materials and structures. Journal of Building Physics 33(3), 201-224.

Walter RB, Taylor LR, Gardner KM, Dorcy KS, Vaughn JE, Estey EH (2013) Outpatient Management Following Intensive Induction or Salvage Chemotherapy for Acute Myeloid Leukemia. Clinical advances in hematology & oncology : H&O 11(9), 571-577.

Ward MDW, Chung YJ, Copeland LB, Doerfler DL (2010) A comparison of the allergic responses induced by Penicillium chrysogenum and house dust mite extracts in a mouse model. Indoor Air 20(5), 380-391.

Ward MDW, Copeland LB, Lehmann J, Doerfler DL, Vesper SJ (2014) Assessing the allergenic potential of molds found in water-damaged homes in a mouse model. Inhalation Toxicology 26(8), 474-484.

Warman K, Silver EJ, Wood PR (2009) Modifiable Risk Factors for Asthma Morbidity in Bronx Versus Other Inner-City Children. *The Journal of asthma : official journal of the Association for the Care of Asthma* 46, 995-1000.

Wen HJ, Chiang TL, Lin SJ, Guo YL (2015) Predicting risk for childhood asthma by pre-pregnancy, perinatal, and postnatal factors. *Pediatr Allergy Immunol* 26(3), 272-9

Wenzel S (2012) Severe asthma: From characteristics to phenotypes to endotypes. *Clinical and Experimental Allergy* 42(5), 650-658.

Witschger O., Grinshpun S.A., Fauvel S., and Basso G. (2004)s. "Performance of personal inhalable aerosol samplers in very slowly moving air when facing the aerosol source." *Annals of Occupational Hygiene* 48 (4):351-368. doi: 10.1093/annhyg/meh006.

Wu AC, Lasky-Su J, Rogers CA, Klanderman BJ, Litonjua AA (2010) Fungal exposure modulates the effect of polymorphisms of chitinases on emergency department visits and hospitalizations. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 182(7), 884-889.

Xu H, Li L, Huang WJ, Wang LX, Li WF, Yuan WF (2012) Invasive pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease: A case control study from China. Clinical Microbiology and Infection 18(4), 403-408.

Yamamoto, N., Dannemiller, K.C., Bibby, K., and Peccia, J. (2014). Identification accuracy and diversity reproducibility associated with internal transcribed spacer-based fungal taxonomic library preparation. *Environ. Microbiol.* 16, 2764–2776.

Yokoe D, Casper C, Dubberke E, Lee G, Munoz P, Palmore T, Sepkowitz K, Young JA, Donnelly JP (2009) Safe living after hematopoietic cell transplantation. Bone Marrow Transplant 44(8), 509-19.

Young SH, Antonini JM, Roberts JR (2009) Preexposure to repeated low doses of zymosan increases the susceptibility to pulmonary infection in rats. Experimental Lung Research 35(7), 570-590.

Yu W, Pan X The paired case-control study between AR in adults and indoor pollutants. In '6th International Conference on Indoor Air Quality, Ventilation and Energy Conservation in Buildings: Sustainable Built Environment, IAQVEC 2007', 2007, Sendai I Air and C Ventilation, pp. 239-246

Zahradnik E, Kespohl S, *et al.* (2013) A new immunoassay to quantify fungal antigens from the indoor mould Aspergillus versicolor. Environmental Sciences: Processes and Impacts 15(6), 1162-1171.

Zeghnoun A, Dor F, Grégoire A (2010) Description du budget espace-temps et estimation de l'exposition de la population française dans son logement. Institut de veille sanitaire–Observatoire de la qualité de l'air intérieur. Disponible sur: www. air-interieur. org.

Zeng Q-Y, Westermark S-O, Rasmuson-Lestander A, Wang X-R (2006) Detection and quantification of Cladosporium in aerosols by real-time PCR. Journal of Environmental Monitoring 8(1), 153-160.

Zhang X, Zhao Z, Nordquist T, Larsson L, Sebastian A, Norback D (2011) A longitudinal study of sick building syndrome among pupils in relation to microbial components in dust in schools in China. Science of the Total Environment 409(24), 5253-5259.

Zhou C, Baïz N, Zhang T, Banerjee S, Annesi-Maesano I (2013) Modifiable exposures to air pollutants related to asthma phenotypes in the first year of life in children of the EDEN mother-child cohort study. BMC Public Health 13(1).

Zuraimi MS, Fang L, Tan TK, Chew FT, Tham KW (2009) Airborne fungi in low and high allergic prevalence child care centers. *Atmospheric Environment* 43(15), 2391-2400.

Site

Epidémiologie : Pour plus d'informations se référer à la collection numérique de l'Inserm : http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/222/?sequence=31, ainsi qu'aux publications de l'INVS : http://www.invs.sante.fr/publications/pol_atmo1/page3.html, et au dictionnaire d'épidémiologie : mettre le référence.

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine

2014 -SA- 0 0 1 6



COURRIER ARRIVE
16 JAN. 2014
DIRECTION GENERALE

Ministère des affaires sociales et de la santé

Direction générale de la santé

Ministère de l'écologie, du développement durable et de l'énergie

Direction générale de la prévention des risques

Paris, le 14 JAN. 2014

Le Directeur général de la santé

La Directrice générale de la prévention des risques

à

Monsieur le Directeur général de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

Objet : Risques sanitaires liés à l'exposition de la population aux moisissures

Le développement des moisissures et la production associée de mycotoxines dans les logements sont susceptibles d'engendrer diverses pathologies allergies, toxi-infections, …. Ces dangers semblent préoccupants en particulier pour certaines populations sensibles comme les enfants.

Le plan d'action sur la qualité de l'air intérieur présenté le 23 octobre 2013 lors des Assises de l'air prévoit donc l'action suivante : « W. Faire un état des connaissances sur l'exposition aux moisissures ».

Ainsi, nous vous saurions gré de réaliser une revue de la littérature et une consultation des acteurs afin :

- de synthétiser l'ensemble des connaissances décrivant les effets sur la santé liés aux moisissures ;
- de réaliser un état de l'art des méthodes de mesure des moisissures dans l'air intérieur, les poussières déposées au sol et les matériaux ;
- d'apprécier les bâtiments concernés (type de bâtiment, nombre, paramètres de développement, etc.) ;
- d'apprécier les populations exposées et/ou à risque (prévalence, évaluation qualitative de l'exposition, populations sensibles).

14, avenue Duquesne – 75350 Paris 07 SP - Tél. : 01 40 56 60 00 r

Au niveau international, une consultation des autres agences sanitaires permettra de recueillir les éventuelles méthodes investiguées pour apprécier les risques sanitaires liés aux moisissures dans les bâtiments, les impacts sanitaires, les perspectives de recherche et de développement sur cette thématique.

Nous vous remercions de bien vouloir accuser réception de la présente demande et de nous indiquer, dans les meilleurs délais, les modalités de réponse à cette saisine que vous envisagez de mettre en œuvre. Le résultat de cette saisine est attendu pour le 31 décembre 2014.

Le Directeur général de la santé

Benoît VALLET

La Directrice générale de la prévention des risques

Patricia BLANC

14, avenue Duquesne – 75350 Paris 07 SP - Tél. : 01 40 56 60 00 r

Annexe 2 : Suivi des actualisations du rapport

Date	Page	Description de la modification
Avril 2016		Première version
Octobre 2016	155 236 273	Deuxième version suite aux corrections d'erreurs de transcription des conclusions de l'Institut of medicine (IOM) et de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) dans le tableau intitulé « *Résumé des conclusions de l'IOM (2004), de celles de l'OMS (2009) et de la présente expertise concernant les liens entre la présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements humides et la survenue d'effets sur la santé* » qui est présent dans les chapitres 4.5 et 8 du rapport et repris dans la partie 3 de l'Avis de l'Anses. Création de l'annexe 2 de suivi des actualisations du rapport, induisant une re-numérotation des annexes.

Annexe 3 : Détail de la revue de la littérature réalisée dans l'expertise « Moisissures dans le bâti »

Identification

Etape 1 : Définition des requêtes Scopus/Pubmed (N =4766 références)

Identification de la littérature grise → volets sciences humaines et sociales et bâtiments

Les objectifs visent à documenter l'état des connaissances sur les points suivants :

- *Effets sur la santé*
  - *Présentation des nouvelles connaissances sur les effets sur la santé liés aux moisissures → évolution et apports des différentes études*
    - *études épidémiologiques*
    - *études toxicologiques*
    - *études cliniques*
  - *Prise en compte des données sur les pathologies associées à des expositions professionnelles.*
  - *Analyse des effets et des relations dose-réponse*
- *Mesures*
  - *Présentation des méthodes disponibles*
  - *Analyse des méthodes afin de proposer un classement des méthodes au regard notamment de critères opérationnels*
- *Paramètres de développement des moisissures dans les bâtis*
- *Déterminants de l'exposition*

I. Description de la stratégie de recherche

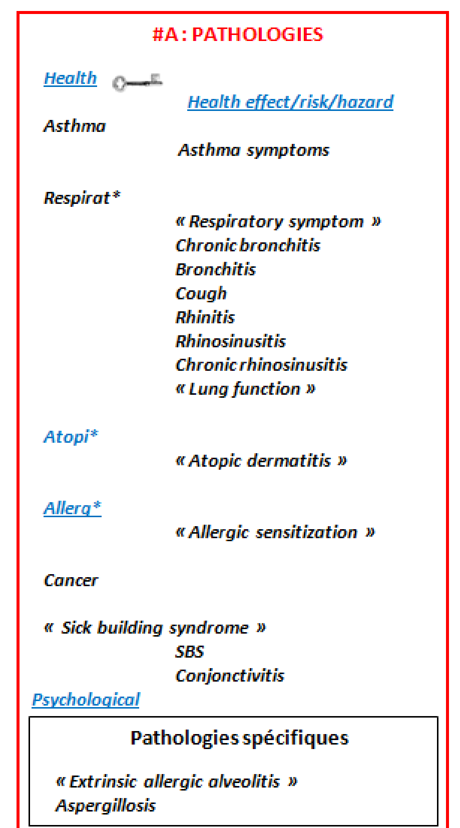
Proposition de mots clés par les membres du groupe de travail « Moisissures dans le bâti »

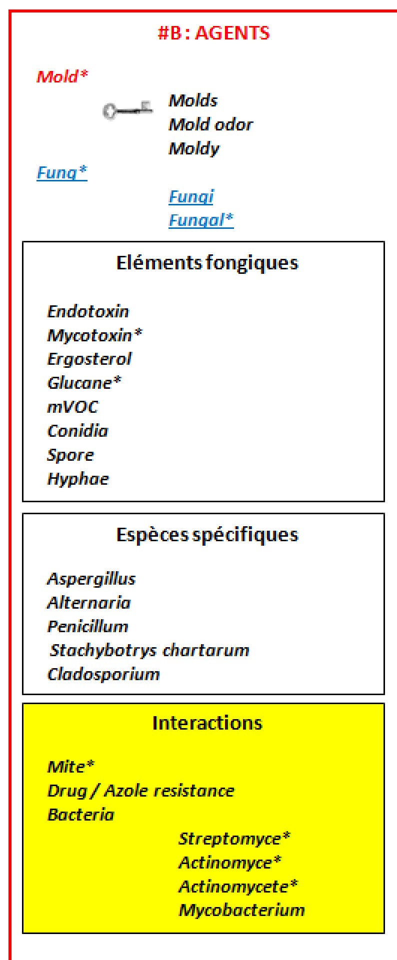
1er groupe de mots clés Agents biologiques	2ème groupe de mots clés Effets sur la santé	3ème groupe de mots clés Environnement intérieur	4ème groupe de mots clés : sensibilité à l'exposition	5ème groupe de mots clés – Mesure
Mold(s)	Rhinitis	Indoor/indoor air quality	vulnerability	Sampling methods
Mold odor	Bronchitis	ventilation	exposure	Electrostatic dust collector (EDC)
endotoxin	Chronic bronchitis	HVAC / AHU	expos*	Electrostatic fall dust collector (EFDC)
LPS	Extrinsic allergic alveolitis		children	Vacuum dust
condensation	Respiratory symptoms	Air-conditioner (air-con)	infants	Air sample/ impaction
drying	Atopic dermatitis	Aeration	household	swabing
release	Allergic sensitization	Rural	socio-economical	QPCR/QPCR-rt
dispersion	Asthma symptoms	Urban	poverty	pyrosequencing
resuspension	Lung function	Cooling	social	culture

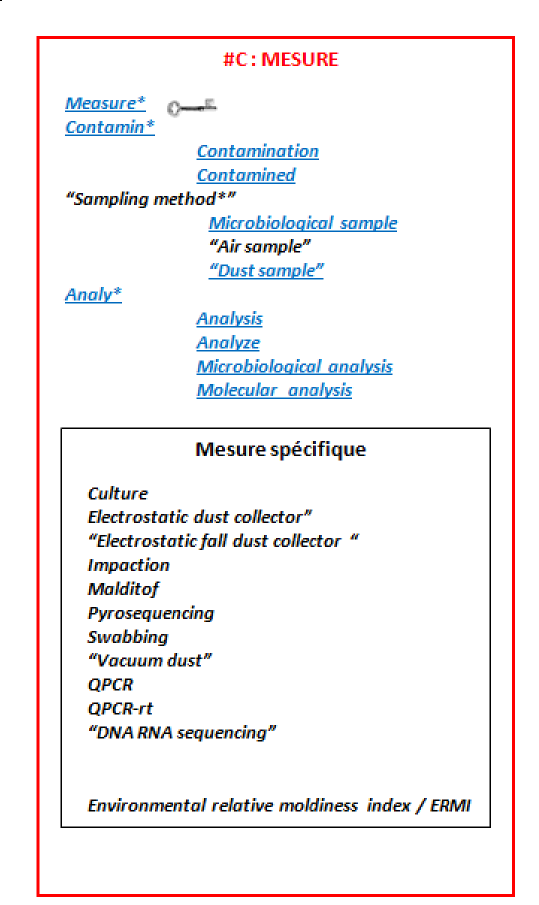
1[er] groupe de mots clés Agents biologiques	2[ème] groupe de mots clés Effets sur la santé	3ème groupe de mots clés Environnement intérieur	4ème groupe de mots clés : sensibilité à l'exposition	5[ème] groupe de mots clés – Mesure
Aerosolization / aerosolizing		humidifier	Indoor environment	malditof
Mycotoxins	lung		Home environment	DNA RNA sequencing
ergosterol	Asthma	building	Social inequalities	
aspergillus	aspergillosis	house	cost	
alternaria	Hypersensitivity pneumonitis	home		
penicillum	Chronic rhinosinusitis	residence		
airborne	cancer	dwelling		
glucanes		Building-associated		
Stachybotrys chartarum	cough	Hospital		
Cladosporium …	Sick building syndrome (SBS	Farm		
streptomyces	Conjonctivitis	Archives/library/record office		
mCOV				
fungal antigens		Domestic		
thermal bridge / cold bridge		Individual exposure		
Environmental relative moldiness index / ERMI				
moldy				
flood				
Actinomyces				
Actinomycetes				
Mycobacterium				
mites				
Azole resistance				
Fungal allergen				
Conidia/spore				
Hyphae				
Dust				
Environmental assessment				

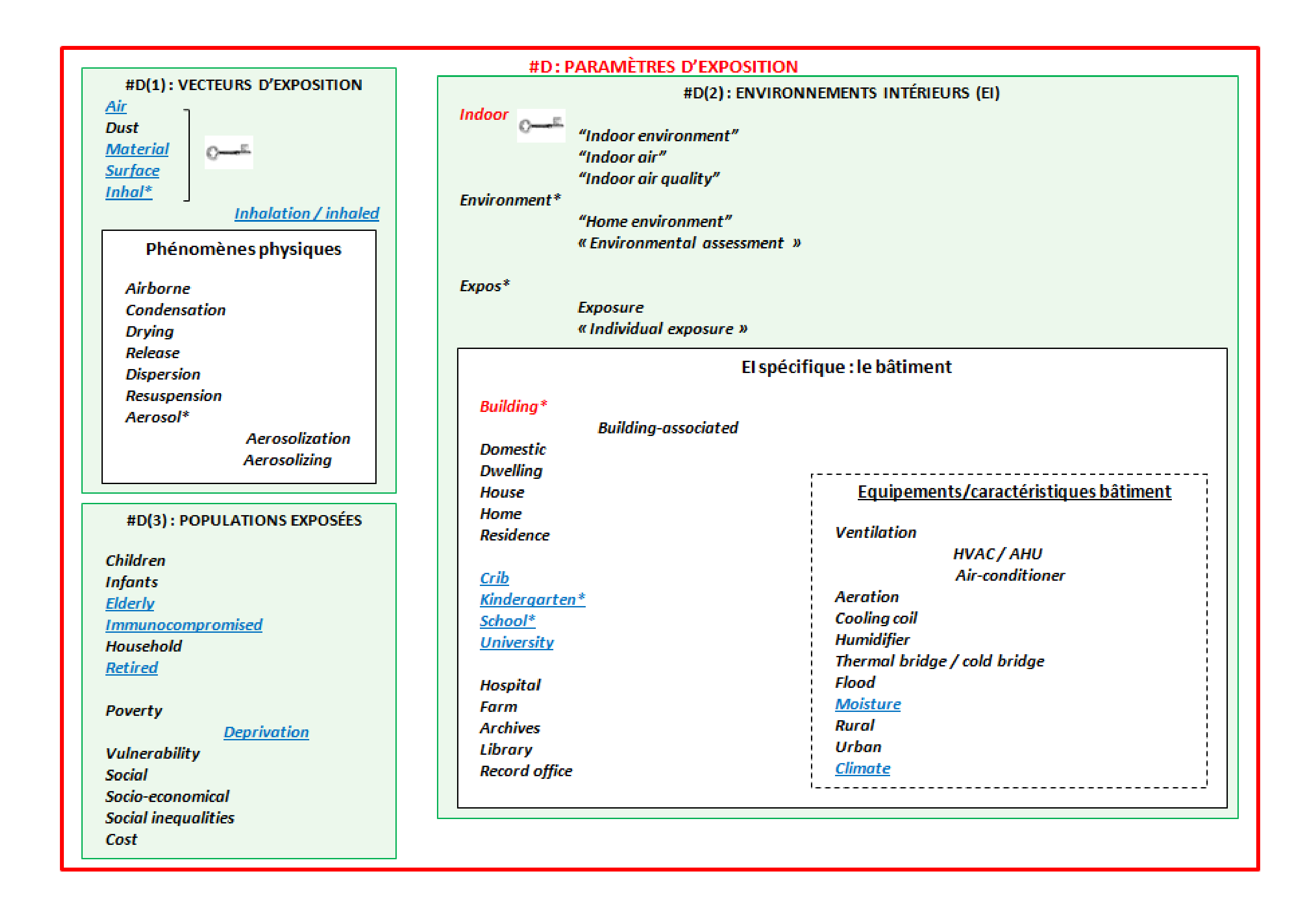
Proposition de regroupement des mots clés par ensemble

Distinction des mots clés génériques et des mots plus spécifiques.









2 - Recherche dans Scopus

5 requêtes ont été retenues lors de la réunion du 24 /09/2014 du GT Moisissures :

1. Requête « Effets sur la santé ».
2. Requête « Mesures »
3. Requête spécifique sur les revues pour documenter les effets sur la santé sans exclusion des symptômes du syndrome du bâtiment malsain (SBS)
4. Requête spécifique pour couvrir le SBS
5. Requête spécifique sur les aspects « bâtiments » et « renouvellements d'air »

1. Requête « Effets sur la santé ».

(TITLE-ABS-KEY (**health***) OR TITLE-ABS-KEY (**asthma***) OR TITLE-ABS-KEY (**respirat***) OR TITLE-ABS-KEY (**atopi***) OR TITLE-ABS-KEY (**allerg***) OR TITLE-ABS-KEY (**cancer***) OR TITLE-ABS-KEY (**psychological***))

AND (KEY (**mold***) OR KEY (**fung***))

AND (TITLE-ABS-KEY (**indoor***) OR TITLE-ABS-KEY (**expos***))

AND PUBYEAR **> 2005**

AND NOT TITLE-ABS-KEY (**food***) AND NOT TITLE-ABS-KEY (**syndrome***) AND NOT TITLE-ABS-KEY (**sbs**) AND NOT TITLE-ABS-KEY (**animal***) AND NOT TITLE-ABS-KEY (**plant***)

AND (LIMIT-TO (**LANGUAGE , "English"**)

OR LIMIT-TO (**LANGUAGE , "French"**))

= 1534 résultats

2. *Requête « Mesures »*

(TITLE-ABS-KEY (**measure***) OR TITLE-ABS-KEY (**contamin***) OR TITLE-ABS-KEY (**"sampling method"**) OR TITLE-ABS-KEY (**analy***))

AND (KEY (**mold***) OR KEY (**fung***))

AND TITLE-ABS-KEY (**indoor**)

AND PUBYEAR > **2005**

AND NOT TITLE-ABS-KEY (**food**)

AND (LIMIT-TO (**LANGUAGE , "English"**) OR LIMIT-TO (**LANGUAGE , "French"**))

= 983 résultats

3. *Requête spécifique sur les revues pour documenter les effets sur la santé sans exclusion des symptômes du syndrome du bâtiment malsain (SBS)*

(TITLE-ABS-KEY (**health***) OR TITLE-ABS-KEY (**asthma***) OR TITLE-ABS-KEY (**respirat***) OR TITLE-ABS-KEY (**atopi***) OR TITLE-ABS-KEY (**allerg***) OR TITLE-ABS-KEY (**cancer***) OR TITLE-ABS-KEY (**psychological***))

AND (KEY (**mold***) OR KEY (**fung***))

AND (TITLE-ABS-KEY (**indoor***) OR TITLE-ABS-KEY (**expos***))

AND PUBYEAR > **2005**

AND NOT TITLE-ABS-KEY (**food***) AND NOT TITLE-ABS-KEY (**animal***) AND NOT TITLE-ABS-KEY (**plant***)

AND (LIMIT-TO (**LANGUAGE , "English"**) OR LIMIT-TO (**LANGUAGE , "French"**))

AND (LIMIT-TO (DOCTYPE , **"re"**))

= 180 résultats dont 155 doublons avec Total_Scopus_Pubmed (soit 25 nouvelles références)

4. *Requête spécifique pour couvrir le SBS*

(TITLE-ABS-KEY (**syndrom***) OR TITLE-ABS-KEY (**sbs**))

AND (KEY (**mold***) OR KEY (**fung***))

AND (TITLE-ABS-KEY (**dwelling***) OR TITLE-ABS-KEY (**domestic***) OR TITLE-ABS-KEY (**house***) OR TITLE-ABS-KEY (**home***) OR TITLE-ABS-KEY (**residence***))

AND PUBYEAR > **2005**

AND (LIMIT-TO (LANGUAGE , "**English**") OR LIMIT-TO (LANGUAGE , "**French**"))

AND (LIMIT-TO (DOCTYPE , "**re**"))

= 45 résultats dont 8 doublons avec Total_Scopus_Pubmed) (soit 37 nouvelles références)

5. *Requête spécifique sur les aspects « bâtiments » et « renouvellements d'air »*

Une requête a été déclinée afin de mieux cibler les besoins sur le volet « Bâtiment » et « Renouvellement d'air » à partir des 2 propositions ci-dessus

Proposition de mots clés à intégrer : building, materials, mould growth, moisture level/ conditions, model, SBS

Proposition d'un groupe supplémentaire #E "conditions thermiques/climatiques : temperature, damp*/moiture, insulation, air exchange, ventilation..."

(KEY (**mold***) OR KEY (**fung***))

AND PUBYEAR > **2006**

AND (TITLE-ABS-KEY (**air***) OR TITLE-ABS-KEY (**dust***) OR TITLE-ABS-KEY (**material***) OR TITLE-ABS-KEY (**surfac***))

AND (TITLE-ABS-KEY (**indoor***))

AND (KEY (**humidit***) OR KEY (**temperature**) OR KEY (**conditions**) OR KEY (**model**) OR KEY (**prediction**) OR KEY (**growth**) OR KEY (**"air exchange"**) OR KEY (**"airflow"**) OR KEY (**air conditioning**) OR KEY (**insulation**) OR KEY (**ventilation**))

AND NOT TITLE-ABS-KEY (**food**) AND NOT TITLE-ABS-KEY (**agricultural**) AND NOT TITLE-ABS-KEY (**workplace**) AND NOT TITLE-ABS-KEY (**industrial**) AND NOT TITLE-ABS-KEY (**occupational**) AND NOT TITLE-ABS-KEY (**hospital**) AND NOT TITLE-ABS-KEY (**office**) AND NOT TITLE-ABS-KEY (**school**) AND NOT TITLE-ABS-KEY (**animal***) AND NOT TITLE-ABS-KEY (**pesticide**) AND NOT TITLE-ABS-KEY (**soil**) AND NOT TITLE-ABS-KEY (**fungicide**)

= 351 résultats (dont 298 articles communs aux requêtes 1 et 2, soit 53 articles spécifiques)

Recherche dans Pubmed

1 requête a été retenue lors de la réunion du 05/11/2014 du GT Moisissures :

(**mold**[Title/Abstract]) (AND ("**2012**"[PDAT] : "3000"[PDAT]))

OR (("**Fungi/adverse effects**"[Mesh] OR "**Fungi/epidemiology**"[Mesh] OR "**Fungi/growth and development**"[Mesh] OR "**Fungi/immunology**"[Mesh] OR "**Fungi/physiopathology**"[Mesh] OR "**Fungi/toxicity**"[Mesh] OR **Fungi/pathology"[Mesh]** OR "**occupational health/epidemiology**"[Mesh] OR "**occupational health/toxicity**"[Mesh]) AND ("**2006**"[PDAT] : "3000"[PDAT]))

=1357 résultats (dont 95 communs aux requêtes 1 et 2, soit 1262 articles spécifiques)

- ***Définition des critères d'exclusion***
  - Hors sujets ne concernant pas la problématique des moisissures
    - Pesticides, pollens, autres microorganismes,
  - Hors champ de l'expertise Anses
    - Pathologies ***non liées*** à une aérocontamination aux moisissures
    - Cas cliniques ***non groupés***
    - Antifongiques et résistances
    - Revues générales sur l'asthme et moisissures
    - Santé travail + prévention
    - Contamination des sols, des aliments, des plantes, des écosystèmes, de l'air extérieur (uniquement)
    - levures ingérées
- ***Thèmes particuliers ressortant:***
  - Proxi:
    - Humidité/température, indicateurs (odeur, …), COV
  - Suivi + intervention après des catastrophes naturelles (ouragan Katrina, Tsunami)
  - Mesures de protection collective et individuelle : remédiation, ventilation/filtration/épuration/décontamination
  - Santé animale par inhalation
  - Modèle *in vitro* et étude de gènes de sensibilité
  - Retour à domicile des patients sensibles
  - Mesures d'expositions professionnelles (Demande du CES AIR suite au passage le 6 novembre 2014)

Annexe 4 : Questionnaire établi pour la consultation des agences régionales de santé

QUESTIONNAIRE SUR L'EXPERIENCE DES ARS CONCERNANT LA PROBLEMATIQUE DE MOISISSURES DANS LE BATI

IDENTIFICATION ET COORDONNÉES DU CORRESPONDANT

Région		
Service		
Nom des Contacts	courriel	téléphone

1. Une action dédiée à la problématique des moisissures dans l'habitat a t-elle été prévue par les PRSE 1 ou 2 ou le sera-t-elle dans le PRSE 3 dans votre région ?
   - ☐ oui
   - ☐ non
   - ☐ ne sais pas

Si oui, pouvez-vous préciser le/les PRSE concernés, l'objectif de l'action, les acteurs et la période où elle devait être réalisée ? A-t-elle été atteinte ou reprise/modifiée dans les éditions suivantes ? Avez-vous rencontré des difficultés pour la réaliser et si oui lesquelles?

2. Dans le cadre des missions des ARS de lutte contre l'habitat insalubre, lors de l'évaluation de l'insalubrité des logements, une éventuelle contamination par des moisissures du logement est-elle recherchée ?
   - ☐ oui
   - ☐ non
   - ☐ ne sais pas

Si oui, comment est évalué le problème de moisissures (odeur, inspection visuelle, mesure microbiologique) ? Et par qui ?

Si oui, quelles procédures sont mises en œuvre face à ces situations ? Est-ce un paramètre qui intervient pour caractériser l'insalubrité et/ou qui est mentionné dans les rapports d'insalubrité ?

Si non, cette pratique est-elle envisagée sur votre territoire ?

Quelles difficultés rencontrez-vous pour gérer ces situations ? Identifiez-vous des pistes d'amélioration ?

3. Existe-t-il un réseau d'acteurs sollicités (Médecins, laboratoires, etc.) pour gérer des problèmes de contamination par des moisissures dans le bâti ?

4. Quelles actions de prévention êtes-vous amenés à mettre en œuvre ?

5. Quelles actions de remédiation êtes-vous amenés à proposer ?

6. Avez-vous des attentes particulières sur la prévention des problèmes de contamination par des moisissures ou des interrogations particulières sur les problèmes de contamination par des moisissures en lien avec les thématiques de l'expertise de l'Anses ?

Effets sur la santé :

Mesures des moisissures :

Appréciation des bâtiments et des populations :…

Moyens de remédiation :

Annexe 5 : Liste des organismes et pays ciblés dans la consultation internationale de l'Anses sur la thématique « Moisissures et santé ».

Pays	Organisme*	Pays	Organisme*
Europe	WHO Europe	Asie	WHO SEARO
Europe	Joint research center (JRC)	Amérique	WHO PAHO
Allemagne	UBA (Umweltbundesamt) - German Federal Environment Agency	Canada	Institut national de santé publique Québec (INSPQ)
Finlande	THL - National Institute for Health and Welfare		Santé canada Université de Montréal
Grèce	UOWM, University of Western Macedonia (UOWM)	Etats-Unis	Centers for Disease Control and Prevention (CDC)
Hongrie	National institute of environmental health (NIEH)		NCEH (National Center for Environmental Health)
Italie	Institute for Environmental Protection and Research (ISPRA) ISS Ministry for the health		NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health HUD (U.S. Department of Housing and Urban Development)
Norvège	National Institute of Occupational Health (STAMI) Norwegian Institute of Public Health (FIH)		California Environmental protection agency (CalEPA) Air resources board
Pays-Bas	National Institute for Public Health and Environment (RIVM) Utrecht University - Research on environmental health risk assessment (IRAS)		US Environmental protection agency (US EPA) Office of Air and radiation / Office of radiation and indoor air / Indoor environments division
Portugal	National institute for health, Environment Health Dept (government ministry)		National institutes of Health (NIH) National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS)
Suède	Institut of environmental medicine (Karolinska Institutet) Public Health Agency of Sweden (Folkhälsomyndigheten)		
Suisse	Federal Office for the Public Health (FOPH)		

* Noms en anglais

Annexe 6 : Questionnaire soumis dans le cadre de la consultation internationale

⇨ ***Health impact or health risk*** :

- Are health impact assessments of indoor moulds exposure conducted by your institution or other institutions in your country/region/province?
- If so, how are they conducted? Which species of fungi or mould-derived air contaminants are taken into account?
- Are they conducted for specific buildings like hospitals, homes, office buildings, schools…?
- Is there an on-going cohort study (or other epidemiologic studies) dealing with indoor mould exposure?

⇨ ***Moulds measurements :***

- Are standards or guidelines developed to measure moulds or mould-derived air contaminants in indoor buildings?
- Are there reference documents or a reference laboratory? If yes, could you provide this information to us?

⇨ ***Parameters associated with mould development :***

- Did you identify some building characteristics associated with indoor mold development among the following parameters?
  - Building categories: collective Housing, individual Housing, public Buildings and commercial Buildings
  - Date of construction? Date of renovation (for example, installing air-tight windows?), …
  - Building materials : synthetic, wood…
  - Ventilation system : Mechanical ventilation ? Air conditioning? Moisture problems : Climate area? Water damage? Flood?
  - Geographical situation

Specific populations of concern

- Did you identify population groups more at risk to be exposed to molds? Or more at risk to develop symptoms?
- Are there specific studies of more sensitive population groups due to exposure to moulds? Are they defined based on health concern, social criteria or any other criteria?

⇨ ***Research and development***

- What are the short- and/or long-term research needs relating to exposure to moulds of the general population identified in your country /region/province?

⇨ ***Public policy or regulation***

- Is there a public policy committing to improve the national situation about exposure of the general population to moulds?
  - If yes, is it in a regulatory framework? Does it concern prevention, remediation, information, actions?
- Does one or several "action levels" associated with remediation measures exist in your country/region/province? If yes, please provide details.

⇨ ***Socio-economic factors :***

- Is there public funding allocated to preventing or remediate mould occurrence?
- Who are the relevant stakeholders involved in prevention or remediation of mould (public, private, national organism, private or group insurance etc.) in your country/region/province?
- Is there available training and commercial labeling?
- Is it concern some buildings like hospital or housing/homes or office buildings or schools?
- Is the topic of moulds dealt with as part of public policy seeking the improvement of indoor air quality? Or addressing degraded housing? Or sick building syndrome? etc.?
- Is the topic of moulds exposures associated with objective socio-economic criteria (income groups, employment status, problem to pay housing expenditure, and household status etc.) ? If yes, what are these criteria?
- Do you assess the costs associated with mould contamination in buildings? If yes, is this based on costs associated with health effects? Or costs of remediation actions?

Annexe 7 : Comptes rendus des auditions

6.1 Table ronde : moisissures et santé

Personnes présentes

Personnalités extérieures :	Anne-Laure Borie Yves Buisson Béatrice Caullet Véronique Houdouin	SCHS – Montreuil SCHS – Montreuil CMEI – LHVP APHP
Experts du GT Moisissures:	Christina Aaschan – Leygonie Valérie Bex Anne-Claire Colleville Emilie Fréalle Stéphane Ginestet Rachel Nadif Gabriel Reboux Sandrine Roussel	
Anses :	Thomas Bayeux Marion Keirsbulck	

Avant-propos

Le présent questionnaire reprend l'ensemble des échanges. Toutefois afin d'en simplifier la lecture, les propos ont été rassemblés autour de plusieurs items et ne suivent donc pas obligatoirement l'ordre chronologique des discussions en séance.

Une présentation de l'Anses et du champ de la saisine (origine de la saisine et domaines investigués, organisation et méthode de travail développée) est réalisée. La mise en place d'une audition est justifiée par l'intérêt que porte le GT aux retours d'acteurs du terrain concernant la problématique des moisissures dans le bâti. Il est précisé que la présente audition relative au lien entre moisissures et santé est la première d'une série d'audition[46]. Un questionnaire avait été communiqué en amont de l'audition aux différents intervenants.

SCHS Montreuil : les propos qui suivront portent sur un retour d'expérience concernant 101 logements visités dont 77 avec des données relatives aux moisissures. Parmi eux, 43 logements ont eu un diagnostic médical associé. L'origine de la visite porte toujours sur une problématique initiale de santé.

CMEI du LHVP : une visite émane systématiquement d'une demande d'un médecin. Ainsi les indications qui suivront seront impactées par une éventuelle sur-représentativité des cas médicaux. Par ailleurs les indications communiquées proviennent d'un retour d'expérience en région parisienne, qui n'est pas obligatoirement représentatif du vécu des CMEI sur le reste du territoire.

Echanges

Moisissures et effets sanitaires

[46] Deux autres auditions sont envisagées sur les thématiques suivantes « moisissures et procédures administratives », « moisissures et intervention dans le bâti ».

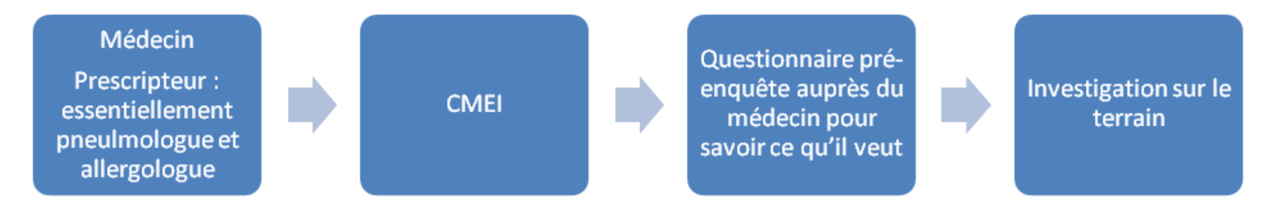
Les pathologies mentionnées par les intervenants portent notamment sur des aspects respiratoires (asthme, rhinite, pneumopathie d'hypersensibilité, aspergillose). D'autres effets sont également mentionnés (irritation oculaire, problème de peau, effet psychique).

L'association entre la présence de moisissures et une pathologie n'est pas évidente notamment lorsque la pathologie est très présente dans une population à l'image de l'asthme chez les enfants (prévalence d'environ 10%). Ainsi les médecins privilégieront les cas les plus sévères afin d'établir un lien avec une exposition aux moisissures.

De manière générale, la question du logement intervient très rapidement dans les consultations médicales notamment en pédiatrie, allergologie et pneumologie. On retrouve cela dans les recommandations de la HAS concernant la prise en charge de l'asthme chez l'enfant[47]. Au regard des retours d'expériences des intervenants, il est indiqué que les moisissures et la mauvaise qualité thermique du logement ont pu être décrites comme problèmes sanitaires lors de visites de prévention du saturnisme par des ménages exprimant ainsi leur expertise d'usage, tandis que d'autres intervenants les décrivent comme davantage rattachées initialement à un désagrément esthétique qu'à un enjeu sanitaire par les occupants d'un logement. Un bilan allergique est toutefois demandé par le médecin avant de recourir à l'intervention d'un laboratoire au niveau de l'habitat.

Signalement et caractérisation de la problématique moisissures

Différents acteurs peuvent être mobilisés afin de caractériser la présence de moisissure au niveau d'un logement. Au niveau des CMEI du LHVP le schéma suivant est réalisé[48] :



La problématique des moisissures est retrouvée dans 80% des interventions de la CMEI du LHVP. Les prélèvements se font en fonction de la nature et du niveau de la pathologie (prélèvement en surface ou prélèvement d'air[49]). Le design de l'intervention implique par conséquent une interaction entre le CMEI et le médecin prescripteur (via notamment un questionnaire pré-enquête).

A Montreuil une procédure est enclenchée à partir d'une demande des habitants ou sur enquête de la ville. Les médecins sollicitent encore peu les services communaux compétents (SCHS). Des techniciens municipaux interviennent alors dans les logements. L'usage d'une caméra thermique est sollicité afin de mettre en avant les ponts thermiques. Les mesures réalisées et retranscrites dans les rapports ont un impact fort mais sont souvent assez limitées d'un point de vue technique.

---

47 http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2009-05/asthme_de_lenfant_de_moins_de_36_mois_-_argumentaire.pdf

48 En fonction du lieu d'exercice, la manière de solliciter les CMEI peut varier. La mobilisation des CMEI par des médecins reste pour le moment relativement limitée au niveau de la ville de Paris, et le plus souvent étant réalisé par des pneumologues.

49 Besançon, au-delà des mesures sur des surfaces, des prélèvements d'air sont effectués par des capteurs électrostatiques. Il s'agit là d'une approche intéressante, notamment dans le cadre d'évaluation de remédiation.

Les analyses et les recommandations dans le rapport final doivent être adaptées en fonction des pathologies.

Au-delà des matériaux, des ponts thermiques et de l'humidité, la sur-occupation d'un logement est un facteur prépondérant dans l'apparition et le développement des moisissures. En effet, les capacités de ventilation du logement sont paramétrées pour une superficie et non pour un nombre d'habitant. Cela se rencontre assez peu dans le secteur public mais très régulièrement dans le parc privé.

Procédures et outils réglementaires

La mobilisation des pouvoirs publics autour de la problématique des moisissures est variable en fonction des communes. Cela dépend également des ressources locales mobilisables. A titre d'illustration, il n'est comptabilisé qu'environ 30 CMEI en France. Les intervenants soulignent que les enquêtes à domicile sont un élément important pour les procédures de relogement.

Le code de la santé publique n'est à l'heure actuelle pas facilement mobilisable sur la thématique des moisissures dans le bâti. En effet, il n'existe pas de réglementation sur les moisissures qui oblige les propriétaires publics ou privés à faire des travaux.

Le Règlement Sanitaire Départemental prescrit seulement d'intervenir sur les causes d'humidité.

Par ailleurs, la loi DALO ne prend pas en compte les moisissures dans les jugements. Il est donc également constaté dans ce cadre de fortes disparités au niveau nationales avec des circuits variables d'un département à l'autre.

Il faut environ 18 mois en moyenne pour reloger des individus ou mettre en place des remédiations. Quand le problème est récurrent cela pose un problème aux habitants. La détection de la source du problème est un enjeu central pour faire une remédiation efficace. Cependant, cela est :

- Complexe
- Implique des travaux lourds
- Nécessite des ressources financières
- Nécessite l'accord de copropriétaires non-concernés

Si cette problématique était intégrée dans le code de la santé publique, cela pourrait activer la mise en place de travaux ou de solution de relogement, avec une protection des droits des locataires. En effet, une procédure de relogement est plus aisée lorsqu'un avis médical est indiqué et que l'enquête atteste d'une présence significative de moisissures. Le SCHS de Montreuil indique qu'une pédagogie sur les délais est nécessaire auprès des personnes exposées en précisant notamment que la situation à court terme ne va pas forcément être modifiée.

Une évaluation de l'impact des procédures auxquelles les intervenants ont contribué est réalisée:

- <u>CMEI du LHVP :</u> → une prise de contact avec les bénéficiaires de la procédure est réalisée plusieurs mois après l'intervention. Un retour positif des visites par les médecins ou les patients est constaté (un même rapport est adressé aux patients et aux médecins). Au niveau de l'île de France, la sur-occupation des logements est difficilement gérable par la CMEI alors que cela est un facteur important dans le développement des moisissures.
- <u>SCHS Montreuil :</u> → un rapport est remis à la famille ainsi qu'une invitation à le transmettre au médecin. Un suivi est alors opéré auprès de la famille afin de voir les mesures adoptées.

Les rapports communiqués par les différents intervenants sont mobilisés par les familles dans le cadre des procédures de relogement. Toutefois aucune famille ne semble venir à des consultations médicales avec ces documents.

Prévention

Il est important que la prévention soit une relation entre différentes parties et non pas une prestation. Plusieurs canaux, à des stades variables de développement, sont mentionnés par les intervenants.

- L'éducation des occupants à la gestion du bâti est avancée. Cela est notamment vrai pour les logements qualifiés d'intermédiaire pour lesquels des mesures simples peuvent permettre d'éradiquer la présence de moisissure (ventilation et aération principalement). Il est mentionné que dans quelques cas, les habitants stoppent le nettoyage du logement afin de favoriser les procédures de relogement. Toutefois beaucoup de cas sont complexes, il est alors nécessaire de mobiliser des acteurs spécialisés. L'utilisation de la Javel est déconseillée par les services techniques de Montreuil car cela a pour effet de décolorer les moisissures et incruster les hyphes dans le substrat et non pas de les supprimer. L'utilisation de vinaigre blanc est préconisée. Par ailleurs le fait de gratter une surface contaminée peut remettre en suspension des spores et donc re-contaminer le logement. Il est donc délicat de savoir jusqu'où impliquer les habitants dans la remédiation des moisissures. Un facteur limitant les interventions sont les ressources financières des familles

- La CMEI recommande aux particuliers d'agir sur les moisissures après avoir délivrée des conseils sur la base du protocole donnée par le LHVP dans les rapports remis aux familles car il y a une quasi-absence d'entreprises compétentes sur le marché.

- Les médecins en PMI signalent de plus en plus les éventuels cas pouvant être rattaché au logement. Il y a eu un changement de culture au niveau local à Montreuil. Les professionnels de la petite enfance à l'image des puéricultrices pourraient également être impliqués.

- Le réseau ville-santé et l'école de l'asthme[50] sont des démarches initiés depuis quelques années. Ce programme d'éducation thérapeutique est donc complémentaire des missions des CMEI. Par ailleurs le fait de travailler en groupe dans les ateliers de l'école de l'asthme permet de faire ressortir plus aisément des problématiques en lien avec les pathologies.

- Sur Paris le réseau asthme ne fonctionne pas car le personnel médical en ville sollicité n'est pas formé et le temps nécessaire à ces consultations est important. Par conséquent les CHU prennent le relai mais ils manquent de disponibilité médicale, de relai avec les secteurs sociaux et de relais médicaux.

- Il y a un aspect intrusif qui peut être mal vécu par la famille lorsque des professionnels se déplacent au domicile. Il est nécessaire que la famille soit par conséquent impliquée dans la gestion du problème. Il faut donc mettre en place des démarches de santé

[50] L'école de l'asthme reçoit les patients adressés dans le cadre du réseau ville-hôpital par le médecin traitant. Les patients apprennent à maitriser les facteurs favorisant leur asthme notamment au niveau du logement.

coopératives. Les familles sont des acteurs de leur santé et les solutions sont à trouver ensemble.

- Une évolution des outils réglementaires est soulignée par les intervenants. Deux approches sont mentionnées, l'une consistant à mobiliser les critères de précarité énergétique afin d'inscrire la mesure de la qualité thermique du logement comme critère d'insalubrité. La seconde approche consiste à développer des seuils de concentration à partir desquels la présence de moisissure est considérée à risque pour les habitants du logement.

- Ces recommandations, ainsi que le nettoyage par des intervenants spécialisés et équipés, figuraient déjà dans le rapport du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France de septembre 2006 « contamination fongique en milieux intérieurs (http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Contaminations_fongiques_en_milieux_interieurs.pdf)

Entretien téléphonique : Société française de mycologie médicale

Personnes présentes

Personnalités extérieures :	Jean-Pierre Gangneux	Société Française de Mycologie Médicale CHU - Rennes
Anses :	Thomas Bayeux Marion Keirsbulck	

Avant-propos

Le présent questionnaire reprend l'ensemble des échanges. Toutefois afin d'en simplifier la lecture, les propos ont été rassemblés autour de plusieurs items et ne suivent donc pas obligatoirement l'ordre chronologique des discussions.

Une présentation de l'Anses et du champ de la saisine (origine de la saisine et domaines investigués, organisation et méthode de travail développée) est réalisée. La mise en place d'une audition est justifiée par l'intérêt que porte le GT aux retours d'acteurs du terrain concernant la problématique des moisissures dans le bâti. Il est précisé que d'autres auditions sont prévues. Un questionnaire avait été communiqué en amont de l'audition.

Echanges

Population et enjeux sanitaires

L'exposition aux moisissures peut toucher en théorie tout le monde. Toutefois des actions doivent prioriser les populations qui en ont le plus besoin. Deux types de population nécessitent une attention particulière au niveau médicale :

- Patients avec pathologies sous-jacentes : maladies respiratoires chroniques comme l'asthme (4 à 5 millions d'individus en France), la mucoviscidose ;
- Exposition de patients fragiles qui reviennent à domicile après une greffe (ou immunodéprimés) pouvant développer une infection fongique invasive. Cela nécessite donc d'avoir des conditions de retour au domicile favorable et d'éviter des activités à risque (bricolage, jardinage…).

Par ailleurs, les facteurs favorisant le développement de moisissures à l'image de l'humidité sont fréquemment présents dans les logements insalubres. Les études américaines font un focus sur les populations défavorisées qui cumulent des facteurs défavorables (humidités, difficultés de chauffer…).

La question de l'environnement et de l'exposition à d'éventuelles moisissures doit figurer dans les premières questions adressées aux patients lors des consultations par les allergologues et pneumologues.

Les acteurs médicaux impliqués sur problématique des moisissures

- CHU de Rennes : le personnel est convaincu de l'importance de la problématique des moisissures
- Ouest France : des réunions régionales sont organisées par des allergologues
- Société Française de mycologie médicale
- Société Française de pneumologie + allergologie

Le rôle des CEI

Cette profession a vu le jour à la suite du PNSE1. Les modes de financement des CEI sont très variables au regard des statuts (libéral, CHU, ARS, association…). L'évaluation du dispositif a été réalisée à titre exploratoire à l'échelle locale. Une évaluation plus importante est actuellement en cours afin d'étudier l'impact des CEI sur la qualité environnementale au domicile du patient, sa consommation de soins. Il s'agit d'une étude multicentrique (12 centres, correspondant à 12 CEI et 300 patients visés). Une comparaison est réalisée entre trois groupes de patients :

- ceux bénéficiant d'une visite de CEI avec des conseils indiqués
- ceux bénéficiant d'une visite de CEI mais ne recevant pas de conseil
- ceux ne bénéficiant pas d'une visite de CEI

Le rôle du CEI est de développer les stratégies permettant de supprimer les nuisances générées par le domicile. Les CEI ont une connaissance précise du corps médical mais également des circuits administratifs et des professionnels du bâti notamment à l'échelle locale. Par conséquent, ils sont une interface privilégiée sur cette thématique.

L'une des principales difficultés réside dans le suivi des recommandations administrées par le médecin ou le CEI auprès des patients, notamment pour des raisons financières. Cette difficulté est également présente en milieu hospitalier.

Les familles restent toutefois très positives sur le fait d'avoir reçu une information et des conseils de la part du CEI. Globalement les populations, y compris des professionnels du domaine médical ou sanitaire, restent peu informées sur la problématique des moisissures.

Prévention et recommandations

Il est important de réfléchir au mode de diffusion des informations afin d'avertir les populations et d'apporter des conseils. Une sensibilisation sur cette thématique doit être faite auprès des pharmaciens d'officine et des médecins généralistes.

Un CNR pourrait être une piste intéressante, notamment pour le champ des infections chroniques. L'Anses pourrait être promoteur d'un guide pour une diffusion de l'information vers la société, ou à minima vers les populations les plus à risque.

La prise en charge se heurte actuellement à la non existence de seuil d'alerte/de gestion concernant la charge fongique environnementale. Des travaux sont en cours sur cette question dans le domaine hospitalier. Il est important pour interpréter des résultats métrologiques de les replacer dans un contexte géographique.

6.2 Table ronde : procédures administratives

Personnes présentes

Personnalités extérieures :	Sophie Eglizaud Susanne Kulig Caroline Nicolas	ARS Pays de la Loire DIHAL/PNLHI DT ARS Loiret
Experts du GT Moisissures:	Christina Aschan – Leygonie Valérie Bex Anne-Claire Colleville Emilie Fréalle Stéphane Ginestet Gabriel Reboux Sandrine Roussel	
Anses :	Thomas Bayeux Marion Keirsbulck	

Avant-propos

Le présent compte rendu reprend l'ensemble des échanges. Toutefois afin d'en simplifier la lecture, les propos ont été rassemblés autour de plusieurs items et ne suivent donc pas obligatoirement l'ordre chronologique des discussions en séance.

Une présentation de l'Anses et du champ de la saisine (origine de la saisine et domaines investigués, organisation et méthode de travail développée) est réalisée. La mise en place d'une audition est justifiée par l'intérêt que porte le GT aux retours d'acteurs du terrain concernant la problématique des moisissures dans le bâti. Il est précisé que la présente audition relative au lien entre moisissures et procédures administratives est la seconde d'une série d'audition[51]. Un questionnaire avait été communiqué en amont de l'audition aux différents intervenants.

Echanges

Signalement des moisissures

[51] Au total trois tables rondes sont mises en place sur les thématiques suivantes « moisissures et santé », « moisissures et procédures administratives », « moisissures et intervention dans le bâti ».

La présence de moisissures est rencontrée fréquemment sur le terrain. Toutefois, selon les ARS, cela fait très rarement l'objet d'un signalement spécifique. Bien qu'elles reçoivent très souvent des fiches de signalement précisant la présence de moisissures, elles n'y répondent que très rarement par des procédures prévues dans le Code de la santé publique. La caisse d'allocation familiale peut être mobilisée pour les cas de non décence (si allocataire), ou renvoi au maire pour les infractions au Règlement Sanitaire Départemental). Les fiches de signalement départementales traitent de nombreux items dont font partie les moisissures et l'humidité, sans que les surfaces impactées ne soient indiquées. L'humidité est un indicateur révélateur d'autres problèmes du bâti. Il est assez exceptionnel pour les ARS auditionnées d'engager des procédures pour des logements dans lesquels seul un problème d'humidité/moisissures apparaît.

Il est important de hiérarchiser les situations en fonction de l'ampleur du problème.

Les travailleurs sociaux permettent de rediriger vers l'ARS des occupants rencontrant un désordre au niveau de l'habitat[52]. Par ailleurs, ils peuvent être associés aux procédures d'insalubrité notamment par l'intermédiaire des pôles départementaux de lutte contre l'habitat indigne. Ces travailleurs sociaux se déplacent de moins en moins au domicile des gens (restrictions budgétaires, des dossiers par travailleur sociaux trop nombreux, insécurités).

Le déplacement des techniciens d'ARS est fonction des départements. La CAF peut être à l'origine de signalement d'insalubrité pour les ARS via les diagnostics de décence qu'elle fait réaliser. Cela est également vrai pour les maires, en application du RSD ou en appui par un opérateur (les ARS n'étant pas toujours confrontées à des allocataires).

La CAF fonctionne par numéro d'allocataire, il est donc souvent difficile d'avoir un historique du logement. En effet, lorsque l'allocataire s'en va, le dossier CAF « suit » l'allocataire et pas le logement : le logement ayant disparu de la base de données peut donc être à nouveau loué sans que la mémoire des désordres soit conservée et ainsi il arrive que la CAF verse à nouveau des aides au logement et engage un nouveau diagnostic si nouvelle plainte..). L'objectif lors d'une visite est de chercher l'ensemble des désordres présents dans le logement. En effet, les personnels d'ARS cherchent à déterminer les causes de développement des moisissures.

---

[52] Dans le département du Loiret (45), les assistantes sociales peuvent adresser à la délégation territoriale de l'ARS une fiche de signalement si elles sont allées à domicile seulement (pas de déclaratif). Sinon elles encouragent les occupants à adresser une plainte à la DT ARS.

Le déplacement d'un conseiller en environnement intérieur peut être réalisé. Cela dépend des relations contractuelles entre l'ARS et le CEI. Le suivi médical des occupants peut permettre d'avoir une évaluation de l'impact des mesures prises dans le logement.

La multiplication des intervenants n'est pas un obstacle car ils sont complémentaires lorsqu'ils sont bien coordonnés. Par ailleurs, même si les circuits déclaratifs peuvent être complexes, les ARS seront contactées *in fine*[53]. De plus les Agences Départementales d'information sur le Logement (ADIL) peuvent jouer un rôle important pour aiguiller les particuliers. Les CAF peuvent également être un relais d'information.

Caractérisation de la problématique moisissures

Pour qu'un logement soit considéré comme insalubre, il faut montrer qu'un risque pour la santé ou la sécurité en lien avec le logement existe. Pour prendre un arrêté d'urgence dû à la présence de moisissures, le plus pertinent est de posséder des analyses des moisissures prélevées. Ces résultats de contamination fongique permettent également d'avoir des éléments pour prescrire une interdiction temporaire d'habiter.

Cependant, la « mesure » de l'humidité de l'habitat se fait essentiellement par constat visuel. Les CEI font des prélèvements de moisissures via des scotch-test ou des écouvillonnages et des bio-impacteurs pour l'analyse de l'air intérieur. Les techniciens ARS IDF ont eu une formation d'une ½ journée pour savoir effectuer des prélèvements moisissures.

Aujourd'hui il n'y a pas de budget pour faire les prélèvements de moisissures alors que le personnel d'ARS serait preneur de méthodes permettant de mieux caractériser les expositions ainsi que le niveau de risque à partir duquel il est nécessaire de déclencher une procédure d'urgence.

Lorsqu'un CEI intervient pour apporter des informations sur des contaminations au sein d'un logement, il réalise l'analyse des mesures effectuées avant de les communiquer à l'ARS et au

[53] Le système de guichet unique existe dans de nombreux département maintenant, ce qui simplifie beaucoup les circuits et rend « transparent » la multiplicité des acteurs.

médecin. Certains CEI font un retour d'expérience, en visitant le logement six mois après la première intervention[54].

Procédures et outils réglementaires

Dans environ 15% des fiches de signalement reçues il s'agit d'insalubrité, le reste pouvant s'apparenter à des infractions aux règles générales d'hygiène prescrites dans les Règlements Sanitaires Départementaux (RSD), relevant des pouvoirs de police du maire, ou à de l'indécence, relevant des règles de droit privé entre bailleur et locataire (Tribunal d'Instance). Lorsque la structure du bâtiment est gravement affectée par la présence de moisissures, la procédure de péril pourra être nécessaire (en cas de péril et d'insalubrité, il est préférable de prendre un arrêté d'insalubrité car des travaux sur la structure et le traitement de l'insalubrité peuvent être prescrits, ce qui n'est pas le cas en procédure de péril.).

Le cas de propriétaires occupants est une situation complexe pour laquelle la procédure d'insalubrité n'est pas la plus fréquente. En effet les ressources financières des propriétaires occupants exposés à un problème important d'humidité/moisissures sont souvent faibles.

Interface ARS/municipalité : les retours des municipalités vers l'ARS ne sont pas toujours réalisés (dans 50% des cas) pour les dossiers relevant du règlement sanitaire départemental. La présence d'un SCHS peut être une aide mais n'est pas une garantie pour un suivi des logements signalé. Cela dépend des moyens humains en présence et de la volonté politique à l'échelle locale.

Il est nécessaire d'avoir des critères de hiérarchisation du risque moisissure à l'instar du niveau de contamination du logement et de la présence d'enfants ou de personnes sensibles (ayant développé des pathologies respiratoires notamment).

Prévention : information et formation

Les CEI en région Pays de la Loire organisent des réunions avec les médecins afin de les sensibiliser aux questions du bâti. Cela permet en retour d'avoir une mobilisation des CEI par les médecins.

[54] L'objectif du diagnostic porte surtout sur l'amélioration de l'état de santé de la personne, il peut être fait par téléphone, pas nécessairement de constat sur place.

Le conseil aux occupants en fonction de la situation est parfois délicat :

- dans certaines situations lourdes, malgré des conseils, l'état du logement ne peut aucunement améliorer
- lorsque le défaut de chauffage est imputable à une situation financière précaire, les conseils s'avèrent inopérants
- lorsque le comportement des occupants est impliqué (mauvaise aération, travaux mal réalisés…) des recommandations peuvent être formulées

Les moisissures se développent généralement lorsque qu'il y a un désordre global du logement :

- Infiltration ou fuite d'eau
- Faible isolation thermique (notamment présence d'un pont thermique)
- Chauffage insuffisant
- Ventilation insuffisante ou inadaptée

Il est actuellement possible de louer un logement dont les performances énergétiques sont médiocres. Ainsi le défaut d'un chauffage associé à des murs extérieurs mal-isolé dans un contexte économique difficile est au cœur de la problématique des moisissures. Des chauffages d'appoint sont ainsi utilisés pouvant accélérer le processus de développement de moisissures en augmentant l'humidité du logement (dégagement de vapeur d'eau), sans compter le risque d'intoxication au monoxyde de carbone.

Prescrire ces travaux au niveau d'un logement seul n'a parfois pas de sens, notamment lorsqu'on se situe dans un contexte multifactoriel. Il faut alors raisonner à l'échelle de l'immeuble.

Des actions auprès des professionnels du bâtiment sont nécessaires. En effet, les travaux de rénovation sont régulièrement néfastes. Par ailleurs les données indiquées par le CEREMA semblent attester que 50% des installations de ventilation sont non-conformes.

Recommandations

Différentes demandes ont émané des échanges :

- Il est nécessaire d'agir sur la performance énergétique des logements et la précarité énergétique. Les moisissures sont un corollaire de ce premier problème. Il est ainsi

nécessaire d'intervenir sur les différents facteurs au même moment et non pas de réaliser des interventions isolées.

Faire évoluer la réglementation pour ne pas pouvoir louer des logements en classes très basses.

Avoir des méthodes/des procédés pour mieux caractériser les moisissures pour les ARS

Joindre aux arrêtés un protocole précisant le traitement des moisissures.

Possibilité de labelliser des entreprises (type Qualibat ?) sur la remédiation des moisissures ?

Avoir des méthodes et critères permettant de prioriser les actions à l'échelle départementale.

6.3 Table ronde : intervention dans le bâti

Personnes présentes

Personnalités extérieures :	Cyril Rimbaut Dominique Brunel Edouard Dao Suzanne Déoux Pierre Deroubaix	ARS Rhône ARS Haute Normandie Alhiconseil MEDIECO ADEME
Experts du GT Moisissures:	Christina Aaschan – Leygonie Valérie Bex Anne-Claire Colleville Emilie Fréalle Stéphane Ginestet Laurence Le Coq Gabriel Reboux Sandrine Roussel	
Anses :	Thomas Bayeux Marion Keirsbulck	

Avant-propos

Le présent compte rendu reprend l'ensemble des échanges. Toutefois afin d'en simplifier la lecture, les propos ont été rassemblés autour de plusieurs items et ne suivent donc pas obligatoirement l'ordre chronologique des discussions en séance.

Une présentation de l'Anses et du champ de la saisine (origine de la saisine et domaines investigués, organisation et méthode de travail développée) est réalisée. La mise en place d'une audition est justifiée par l'intérêt que porte le GT aux retours d'acteurs du terrain concernant la problématique des moisissures dans le bâti. Il est précisé que la présente audition relative à la remédiation des moisissures dans les environnements intérieurs est la troisième d'une série d'audition[55]. Un questionnaire avait été communiqué en amont de l'audition aux différents intervenants.

Echanges

Sollicitations

Les sollicitations pour une intervention vis-à-vis de la problématique des moisissures concernent dans un premier temps les ARS/DT d'ARS qui sont contactées par les occupants (locataires, propriétaires occupants). La sollicitation porte rarement uniquement sur des questions en lien avec les moisissures, les problèmes étant plus larges. Par ailleurs, les individus qui contactent l'ARS n'ont pas forcément une santé détériorée.

Les travailleurs sociaux, les professionnels de santé et les CEI, peuvent constituer une interface entre les habitants et l'ARS. Les organisations départementales en matière de réception et de traitement des signalements peuvent être différentes d'un territoire à l'autre.

Typologie des bâtiments concernés

Les moisissures sont quasiment toujours présentes dans les logements lorsque les ARS sont sollicitées. La problématique des moisissures peut se retrouver également dans les ERP,

[55] Au total trois tables rondes sont mises en place sur les thématiques suivantes « moisissures et santé », « moisissures et procédures administratives », « moisissures et intervention dans le bâti ».

notamment des écoles. L'ARS peut être notamment alertée par des parents d'élèves (la mairie, la direction de l'établissement ou le corps enseignant, l'agent chargé de la mise en œuvre des règles d'hygiène et de sécurité (ACMA), ou correspondant hygiène du rectorat et de l'inspection d'académique sont aussi des signalants potentiels). Les immeubles de bureaux semblent moins touchés.

Les prélèvements de moisissures attestant d'une contamination d'un environnement intérieur permettent d'alerter les autorités.

Causes potentielles favorisant le developpement des moisissures

La question des moisissures dans l'habitat mérite d'être intégrée dans une réflexion globale. Une situation doit s'étudier pour être améliorée afin d'éviter des solutions de court terme. Les techniciens du bâtiment peuvent dire après étude si la présence de moisissures est du fait de l'usage ou de la conception du logement.

La nature des causes de moisissures peuvent être multiples (caractéristiques du bâti, usages…). Les facteurs suivants sont mentionnés :

- Sur-occupation conduisant à une surproduction de vapeur d'eau d'origine humaine et domestique.
- Manque d'aération régulière par ouvertures des fenêtres, notamment lors du séchage du linge.
- Condensation sur des murs extérieurs non isolés ou sur les zones de ponts thermiques (angles de mur, appuis de fenêtres,...).
- Positionnement du mobilier à proximité des murs extérieurs froids empêche la ventilation d'enlever l'humidité en surface.
- Défaut de conception et de mise en œuvre des pièces humides (étanchéité, ventilation), voire immeuble dans son intégralité.
- Infiltrations et dégâts des eaux.
- Remontées d'eau par capillarité du sol dans les murs poreux.
- Absence de système de ventilation mécanique ou dimensionnement non adapté aux locaux. Encrassement des bouches d'entrées et d'extraction d'air. Obturation des ventilations.
- Travaux de mauvaise qualité par des professionnels ou des particuliers et manque d'entretien.
- Utilisation de chauffages, comme les poêles à pétrole qui produisent d'importantes quantités de vapeur d'eau. Utilisation de chauffages d'appoint à combustion non raccordés.
- Local non conçu pour être habité.

La phase chantier peut également être à l'origine d'un développement de moisissures. En effet, le système de ventilation entre en activité tardivement alors que l'étanchéité de l'enveloppe des bâtiments ne permet pas une extraction rapide de la vapeur d'eau dégagée par le séchage des supports, notamment des chapes. Ce problème peut être limité si le chantier est pourvu d'une déshumidification et d'une ventilation adéquate. Sur le chantier, la mise en œuvre de produits de construction mal protégés face aux intempéries est aussi à l'origine de développement fongique.

L'Ademe n'est pas mobilisée directement par les particuliers. L'agence cherche à faire évoluer la réglementation ou mettre en place des actions auprès des professionnels sur la ventilation notamment. La précarité énergétique est au centre des questions, car elle favorise de manière significative la présence de moisissures.

Diagnostic de la contamination

Critères pris en compte actuellement dans l'évaluation des risques : Espèce/pathogènicité de l'agent microbien, étendue du développement microbien dans le logement, nombre de pièces concernées, résultats analytiques d'identification et de dénombrement.

La remédiation

Les ARS posent un objectif de résultat et non de moyen. Par conséquent ils ne répondent pas positivement aux sollicitations des particuliers sur les travaux à réaliser. Des opérateurs locaux (souvent associatifs) sont là pour ça et les ARS redirigent les particuliers vers eux. Le marché de la remédiation offre relativement peu de professionnels compétents sur la thématique des moisissures.

Le contrôle de levée d'arrêté d'insalubrité se fait par l'ARS. Lorsqu'un problème de moisissures avait été diagnostiqué, le contrôle post-remédiation s'effectue de la façon suivante :

- Vérification de la suppression des causes d'humidité
- vérification de l'efficacité du chauffage
- Si présence de VMC, vérification de son bon fonctionnement afin de s'assurer de l'extraction de l'humidité
- Présence d'un minimum d'isolation (aucune contrainte réglementaire)

Lorsque les surfaces de moisissures ne sont pas importantes, il est envisageable que le particulier ne fasse pas appel à une entreprise. Il est toujours recommandé de confiner la zone à traiter et de porter des équipements de protection afin de limiter l'exposition à des spores remises en suspension (masque FFP2, gants et lunettes de protection). La surface contaminée est nettoyée avec une éponge imbibée d'une solution d'eau de Javel, ensuite rinçée et séchée…). Le nettoyage peut également intervenir au niveau des systèmes de ventilation (notamment double flux). Par ailleurs, au-delà du débit d'air, il est important que la circulation de l'air soit assurée dans le logement (des entrées d'air dans les pièces principales à l'extraction dans les pièces humides, notamment grâce au détalonnage des portes).

Enfin changer les matériaux est une solution de court terme, il est primordial de trouver la cause de la présence des moisissures.

Constats sur le parc de logements

Les contrôles des règles de construction (CRC) sont assurés par les Centres d'études et d'expertise sur les risques, l'environnement, la mobilité et l'aménagement (CEREMA) dans 300 à 400 logements par an. Selon les bilans, 47 % des logements neufs ne sont pas conformes à la réglementation technique de la rubrique « aération ». Le taux de non-conformité s'élève à 68% en maison individuelle. 46 % des dysfonctionnements sont dus à une mauvaise mise en œuvre des dispositifs terminaux du système de ventilation, c'est-à-dire les entrée d'air (24%) et les sorties d'air (22%).

La prise de conscience de la chaîne des acteurs de l'acte de construire vis-à-vis de l'importance de la ventilation n'est pas suffisante, des architectes, des bureaux d'études aux entreprises qui mettent en œuvre ces lots techniques. En outre, il n'y a pas de contrôle obligatoire des performances des systèmes à réception et en exploitation.

Recommandations

Une sensibilisation de différents acteurs est donc nécessaire :

- des professionnels du bâtiment afin de concevoir et de réaliser des bâtiments permettant de réduire la problématique des moisissures
- des occupants lors de l'entrée dans un logement par rapport au bon usage du bâti des élus locaux et des gestionnaires des parcs immobiliers (bailleurs notamment bailleurs sociaux)

Il est difficile d'évaluer les risques afin de savoir à partir de quel moment il est nécessaire d'agir. Ainsi, des critères en lien avec l'exposition aux moisissures permettant de mobiliser la procédure d'urgence afin de sortir les occupants d'un logement seraient appréciés. Il est nécessaire d'établir une méthode ou une grille afin d'objectiver et consolider l'étape d'évaluation des risques sanitaires. Une aide à l'interprétation / validation des données issues de mesures lorsque sont réalisées serait aussi utile.

Pour pouvoir remédier à la problématique des moisissures il est nécessaire d'avoir un diagnostic technique préalable des causes et des désordres de l'habitat. Ainsi un guide d'observation logique à destination des techniciens d'ARS pour faciliter l'analyse du logement et la recherche des causes du développement des moisissures pourrait être conçu. Afin d'éviter des travaux de remédiation *a minima* qui peuvent permettre de lever un arrêté, ce guide pourrait s'étendre à l'évaluation qualitative des interventions réalisées.

Outre ce document technique, il pourrait être envisagé d'élaborer un guide/conseils de prévention ou de bonnes pratiques visant à limiter l'apparition ou l'extension des moisissures (bonne ventilation, consignes de nettoyage…) à l'attention du public concerné par cette problématique ou particulièrement sensible.

La mise en place d'un contrôle concernant les questions de moisissures lorsqu'une subvention (argent public) a été donnée semble nécessaire notamment pour la rénovation.

Il est nécessaire d'intégrer dans la réglementation énergétique les aspects ventilation (contrôle systématique / démarche qualité) afin d'avoir un équilibre dans l'habitat entre économie d'énergie et renouvellement d'air. Il faut aller au-delà de l'arrêté du 3 mai 2007 relatif aux caractéristiques thermiques et à la performance énergétique des bâtiments existants.

Les entreprises de ventilation pourraient faire l'objet d'un label assurant que le produit installé fonctionne de manière optimale. Une action de sensibilisation auprès d'organismes professionnels tels que la Confédération de l'Artisanat et des Petites Entreprises du Bâtiment (CAPEB) ou de la Fédération Française du Bâtiment pourrait également être envisagée.

Entretien téléphonique : SOLIHA VALIDE

Personnes présentes

Personnalités extérieures :	Anne Le Bail	SOLIHA
Anses :	Thomas Bayeux Marion Keirsbulck	

Avant-propos

Le présent compte rendu reprend l'ensemble des échanges. Toutefois afin d'en simplifier la lecture, les propos ont été rassemblés autour de plusieurs items et ne suivent donc pas obligatoirement l'ordre chronologique de la discussion.

Une présentation de l'Anses et du champ de la saisine (origine de la saisine et domaines investigués, organisation et méthode de travail développée) est réalisée. La mise en place d'une audition est justifiée par l'intérêt que porte le GT aux retours d'acteurs du terrain concernant la problématique des moisissures dans le bâti. Il est précisé que d'autres auditions sont prévues. Un questionnaire avait été communiqué en amont de l'audition.

Echanges

Présentation de l'organisme

SOLIHA intervient sur l'amélioration de l'habitat. L'objectif est, notamment, que des personnes ayant de faibles ressources n'engagent pas des travaux sans avoir une vision globale de leur logement afin d'en assurer la pérennité. Les équipes sont constituées d'intervenants techniques (architectes, ergothérapeutes…), sociaux, administratifs et financiers.

SOLIHA a d'autre part comme vocation de mobiliser les financeurs pour permettre aux ménages modestes de réaliser leurs travaux. Pour cela, des conventions sont passées avec des organismes (retraites complémentaires, CNAV, MSA, ANAH) afin d'instruire des dossiers de demande d'aide. Il n'y pas de critère préalable à la sélection des dossiers autre que le niveau des ressources.

L'amélioration de l'efficacité énergétique est une préoccupation croissante. Une réflexion globale est nécessaire car une rénovation visant à accroitre l'efficacité énergétique peut conduire à des désordres (hausse de l'humidité et développement des moisissures). Si la situation socio-économique des personnes peut être une cause possible de développement des moisissures (précarité énergétique, suroccupation…), la nature des travaux entrepris en est un facteur également important (blocage du passage de l'air, ou de la vapeur d'eau)

Les opérations programmées d'amélioration de l'habitat sont des dispositifs mis en place par les collectivités territoriales en partenariat avec l'ANAH. Elles visent à financer des actions de requalification du bâti sur un territoire ciblé en rapport avec des thématiques précises (amélioration de l'habitat, lutte contre l'habitat indigne, ravalement de façade, efficacité énergétique,…).

Financement

Les collectivités territoriales passent une convention avec l'association SOLIHA pour qu'elle accompagne leurs administrés (assistance, conseil). Cela permet de monter un projet de travaux et de mettre en relation les ménages avec des professionnels du bâtiment (architecte…) et de mobiliser des aides financières. L'association sert donc à faire appliquer sur le terrain les politiques en lien avec l'habitat.

Les conventions avec les collectivités locales représentent 1235 contrats en 2014 au niveau nationale et 330 contrats fin septembre 2015 en l'Île-de-France.

Les aides financières mobilisées par SOLIHA peuvent être collectives (vers un syndicat de copropriété) comme individuelles (qui sont plus d'un ressort social).

Les facteurs du bâti favorisant le développement des moisissures

Le problème de développement des moisissures est avant tout causé par une défaillance physique du bâtiment, souvent une mauvaise migration de la vapeur d'eau. Cela se produit notamment du fait de l'existence de pont thermique.

La sur-occupation des logements est un facteur prépondérant dans le développement des moisissures.

Lors de la conception ou de la rénovation d'un logement, il est nécessaire d'avoir un équilibre entre ces différents paramètres :

- Création de ventilation mécanique contrôlée
- Adaptation du chauffage en fonction de la ventilation
- Isolation

Par ailleurs la nature des travaux doit s'adapter aux occupants alors que les interventions recommandées aujourd'hui sont d'ordre intemporelle (on traite de manière assez peu différenciée les bâtiments malgré des périodes de construction variées) et pour tout type de ménage (personne seule, couple avec enfants, personnes jeunes ou âgées…).

Il est nécessaire de prendre en considération la notion de confort thermique pour chaque occupant de logement afin de contrebalancer un discours trop techniciste. Ce confort thermique doit également être considéré au regard des différentes saisons durant l'année.

Il semble que la proportion de logements avec présence de moisissures soit plus importante en milieu urbain que rural, du fait notamment d'un différentiel d'occupation des logements. Ce point concerne particulièrement l'Île-de-France.

Intervention et communication

Il est nécessaire d'avoir une approche globale du bâtiment et personnalisée en fonction des occupants. Les réponses doivent être au cas par cas. Les guides « éco-gestes » et « éco-conseils » ne sont pas forcément compris par les personnes à qui ils sont destinés.

La sensibilisation des occupants mériterait d'être améliorée (compréhension du phénomène physique notamment). Cela passe notamment par une formation des professionnels du bâtiment (artisans, architectes) concernant la problématique des moisissures.

Plus généralement les personnes qui interviennent au domicile et qui ont une relation de confiance avec l'occupant, à l'image de travailleurs sociaux, peuvent être un relai d'information pertinent.

Annexe 8 : Annexe technique relative au chapitre 3 Caractérisation des expositions aux moisissures dans les environnements intérieurs

Cette annexe fournit un complément d'information sur les développements métrologiques décrits dans le corps du rapport dans le chapitre 3.2.

Les méthodes de mesures recensées se caractérisent par une multitude d'approches pour la caractérisation de la flore fongique dans les environnements intérieurs aussi bien en terme de prélèvement (surface, air, poussières, matériaux) que d'analyse. Mais la plupart de ces méthodes diffèrent essentiellement par la technique analytique utilisée. C'est pourquoi les éléments techniques détaillés dans cette annexe sont discriminées selon la technique d'analyse.

Elle s'articule en 3 parties correspondant à :

9.1. Méthodes de mesure reposant sur l'analyse par culture

9.2. Méthodes de mesure reposant sur l'analyse par biologie moléculaire

9.3 Méthodes de mesure pour la recherche de composants ou métabolites fongiques

Annexe 8.1 : Méthodes de mesure reposant sur l'analyse par culture

A. Consensus pour une plateforme méthodologique (CSHPF, 2006)

Le troisième chapitre du rapport du CSHPF présente les techniques d'échantillonnage et d'analyse des moisissures dans l'habitat et aboutit à un consensus pour une plateforme méthodologique. A l'écriture du rapport, les méthodes basées sur la culture étaient les seules à permettre une identification des moisissures à l'espèce.

Le groupe de travail du CSHPF recommande d'effectuer à la fois des prélèvements d'air et des prélèvements de surface. Le prélèvement d'air permet de mieux appréhender l'exposition des individus. L'étude des surfaces permet d'évaluer l'étendue des zones contaminées et d'analyser le biofilm qui se développe en fonction du degré d'humidité, de la composition et de la température des supports.

Une des difficultés soulevée est la durée très limitée des prélèvements d'air. Souvent limités à quelques minutes, ils ne sont pas représentatifs des variations importantes de concentrations dans le temps. Les prélèvements de poussière fournissent une meilleure indication de l'exposition cumulative aux populations microbiennes. Les prélèvements d'air restent cependant plus représentatifs de l'exposition respiratoire réelle.

L'échantillonnage de l'air :

- Prélèvements par impaction en milieu solide.
- Deux milieux de culture par point de mesure (un généraliste et un spécifique).
- Entre 80 et 100 litres d'air par prélèvement.
- Fenêtres et portes fermées. Capteur à hauteur des voies respiratoires.
- Plusieurs points de mesures. Au minimum :
    - la pièce où se trouve la contamination ou l'humidité.
    - une pièce de référence sans problème de moisissures ou l'air extérieur.

L'échantillonnage des surfaces :

- Au moins deux techniques différentes.
- Etre représentatif des différents aspects des zones contaminées.

- Ecouvillon humidifié. Lames ou rubans adhésifs sans appui excessif.
- Même milieux que ceux utilisés pour l'air.

L'échantillonnage de la poussière :

- Aspirateur dédié et équipé spécialement (filtre HEPA).
- A effectuer après les prélèvements d'air pour ne pas fausser la mesure.
- Au minimum 1m² aspiré 2 minutes.

Transport et stockage des échantillons :

- Bien identifier les prélèvements.
- Les milieux de culture doivent parvenir en moins de 24H au laboratoire.
- Les autres types prélèvements doivent être transportés dans les conditions et délais demandés par le laboratoire.

Les conditions des cultures :

- Incubation direct des prélèvements par impaction. Ensemencement des autres prélèvements. Ensemencement des écouvillons par épuisement ou après rinçage dans 2mL de liquide.
- Températures à 25°C ± 1° pour la flore habituelle et entre 37 et 44°C pour la flore thermophile.
- Lecture à 2 et à 7 jours.

Les résultats :

- Nombre de colonies par volume d'air prélevé, par surface prélevée ou par gramme de poussière. Pour l'impaction, utiliser la table de correction de l'instrument.
- Distinguer le dénombrement impossible dû à une espèce expansive et le dénombrement impossible dû à un nombre trop important de colonies.
- Identification à l'espèce par les méthodes morphologiques classiques.
- Un rapport indiquant les conditions d'échantillonnage, d'environnement, les références des échantillons et toute indication nécessaire à sa bonne compréhension.
- L'interprétation se fera à partir des propres bases de données du laboratoire.

B. Normes internationales se rapportant aux moisissures – NF ISO 16000- 16 à 21

Entre février 2009 et novembre 2014, six normes internationales se rapportant aux moisissures ont acquis le statut de normes françaises, elles reproduisent intégralement les textes de l'ISO 16000-16 à 21 se rapportant aux prélèvements d'air (NF ISO 16000-16 et 18), aux prélèvements de surface et de matériaux (NF ISO 16000-21), à la stratégie d'échantillonnage (NF EN ISO 16000-19) et enfin à l'analyse des moisissures par culture (NF ISO 16000-17), à la détermination du nombre total de spores (NF ISO 16000-20). Leur principal objectif est de proposer une harmonisation des méthodes pour permettre d'agréger et de comparer les données produites par l'ensemble de la communauté scientifique au niveau international.

La norme NF ISO 16000-18 « Détection et dénombrement des moisissures – Echantillonnage par impaction » publiée en septembre 2011 indique les exigences d'échantillonnage de courte durée (1 min à 10 min) des moisissures dans l'air intérieur par impaction sur milieu gélosé solide. Les boîtes de gélose sont ensuite traitées selon les principes de la norme NF ISO 16000-17.

Le diamètre de coupure des impacteurs doit être de préférence de 1 µm ou moins ; il ne doit pas dépasser 2 µm pour permettre un échantillonnage efficace des petites spores.

Il est conseillé de prélever des volumes d'air différents en parallèle (par exemple 2 x 50 l et 2 x 100 l) à chaque point d'échantillonnage ainsi qu'un blanc de terrain. Un minimum de quatre boîtes de

gélose DG18 et de quatre boîtes de gélose malt ou dextrosée à la pomme de terre sont donc nécessaires pour chaque point de prélèvement. Des volumes d'échantillonnage inférieurs à 50 l ne sont pas recommandés en raison de l'erreur de détermination du volume échantillonné due au volume mort du dispositif de prélèvement.

L'échantillonnage est généralement réalisé à une hauteur de 0,75 à 1,5 m du sol.

Le risque de dessiccation pendant l'impaction est faible en raison des courtes durées d'échantillonnage et de l'impaction directe sur les boîtes de gélose.

L'intervalle optimal de nombre de colonies pour le dénombrement est de 10 à 100 colonies par boîte de gélose. Par conséquent, il est essentiel que le volume d'échantillonnage soit ajusté en fonction de la concentration attendue dans l'air pour éviter la surcharge des boîtes qui conduit à une sous-estimation de la concentration ou un nombre de colonies trop faible par boîte pour obtenir des résultats statistiquement valides. Il est recommandé de réaliser plusieurs prélèvements avec des durées d'échantillonnage différentes lorsque le niveau de concentration en spores fongiques attendu est inconnu.

La norme NF ISO 16000-21 « Détection et dénombrement des moisissures – Echantillonnage à partir de matériaux » publiée en février 2014 aborde les exigences d'échantillonnage des moisissures à partir de matériaux de construction.

Les matériaux contaminés sont examinés soit par échantillonnage de surface soit par échantillonnage global c'est-à-dire par examen de l'ensemble du matériau ou de couches plus profondes. Les surfaces sont échantillonnées au moyen d'une boîte contact, d'un ruban adhésif ou par écouvillonnage. Les écouvillons peuvent être utilisés pour prélever sur les surfaces inaccessibles aux boîtes de géloses (par exemple coins, fissures).

Après échantillonnage, les spores de moisissures peuvent être analysées par microscopie directe (ruban adhésif, matériau, suspension) ou traitées et cultivées en utilisant la méthode par suspension décrite dans l'NF ISO 16000-17.

Les méthodes d'échantillonnage de surface ne donnent que des résultats semi-quantitatifs. Il n'est pas recommandé de présenter le résultat de mesure en termes « d'unités formant colonies (ufc) par unité de surface ». Une approche plus appropriée consiste à décrire la densité de population sur le milieu de culture (par exemple couche sporadique, importante, dense). L'identification des espèces fongiques fournit plus d'informations que leur quantification.

Grâce à la méthode de prélèvement au moyen d'un ruban adhésif et à la microscopie directe, il est possible de confirmer une croissance suspectée de moisissures sur un matériau par mise en évidence de mycélium. L'observation microscopique ne fournit que des résultats semi-quantitatifs. Le résultat est présenté par types de spores et fragments mycéliens identifiés à l'exclusion des spores sans ornementation ni taille spécifique non identifiable comme *Penicillium, Aspergillus*, Paecilomyces et indiqués dans l'ordre de leur fréquence d'apparition.

La norme NF EN ISO 16000-19 « Stratégie d'échantillonnage des moisissures» publiée en novembre 2014 est la seule norme ISO 16000 concernant les moisissures qui a été approuvée par le CEN. Aucune modification n'a été apportée par rapport au texte de l'ISO 16000-19.

Le principal objectif de cette norme est de décrire la stratégie d'échantillonnage des sources de moisissures dans les environnements intérieurs. Les méthodes et les modes opératoires présentés ne permettent pas d'évaluer l'exposition quantitative des occupants.

La présence de moisissures dans l'air intérieur résulte d'un transport des spores à partir de l'air extérieur, d'une part, d'une remise en suspension de spores déposées sur les supports et d'un éventuel développement actif de moisissures dans les locaux, d'autre part. Pour différencier ces différentes sources, il est donc important de réaliser à un prélèvement de référence de l'air extérieur à chaque fois que des prélèvements de l'air intérieur sont effectués pour détecter des

moisissures. Le prélèvement d'un échantillon témoin dans une pièce de référence peut également s'avérer utile.

Pour l'évaluation d'une contamination fongique, le type et le nombre de prélèvement, de même que les méthodes d'analyse utilisées, sont déterminés par l'objectif de l'investigation.

Une inspection visuelle sur le terrain avant les prélèvements est une condition préalable indispensable pour la détection et l'évaluation des sources de moisissures dans les environnements intérieurs. Pour appuyer les conclusions et les observations visuelles et confirmer une suspicion de développement de moisissures, il peut être utile de recourir à des prélèvements et analyses de moisissures (matériaux, air, poussières domestiques).

Indépendamment de la méthode d'échantillonnage choisie, les fenêtres et les portes de la pièce doivent être fermées environ 8 h avant le début du prélèvement et doivent rester fermées pendant l'échantillonnage.

Le Tableau 32 issue de la norme synthétise le type de prélèvement à réaliser selon l'objectif de l'investigation.

Tableau 32 : Recommandations pour aider à la prise de décision concernant l'échantillonnage après une inspection sur le terrain (extrait de la norme NF EN ISO 16000-19)

Résultat et objectif			Matériau	Air intérieur	Poussière domestique	Action à entreprendre
1	Dommage de moisissure visible		A[a]	B[b]	B[b]	Identifier et, le cas échéant, éliminer la source d'humidité
2.1	Suspicion de dommage de moisissure	Humidité du matériau	A	B	B	Identifier et, le cas échéant, éliminer la source d'humidité
2.2		Anomalies non structurelles/structurelles	–	A	B	Vérifier les anomalies, identifier la source et, le cas échéant, corriger
2.3		Problèmes de santé	–	A	B	Identifier la source et corriger
2.4		Problèmes d'odeur	–	A	B	Identifier la source de l'odeur
3	Surveillance des actions correctives		A	A	B	–

A : Examen approprié pour répondre aux questions d'intérêt.
B : Examen supplémentaire pour répondre aux questions d'intérêt (facultatif).

[a] : Le prélèvement de matériau peut être utile pour répondre à des questions spécifiques concernant un dommage de moisissure très sérieux.
[b] : Si la dispersion de la contamination a besoin d'être analysée.

Si l'investigation est déclenchée sur prescription d'un médecin spécialiste en raison de problèmes de santé, il convient de réaliser une étude complète des espèces de moisissures présentes. Les méthodes d'échantillonnage des surfaces (contact/écouvillon) ou la méthode de mise en suspension pour les matériaux, complétée par un échantillon prélevé par ruban adhésif sont préconisées pour l'étude des supports moisis. Si l'inspection de terrain n'a fourni aucune indication d'une source de moisissures, il est nécessaire de prélever des échantillons d'air.

La norme NF ISO 16000-17 « Détection et dénombrement des moisissures – Méthode par culture » publiée en février 2009 propose une méthode de détection et de dénombrement des moisissures par culture, après échantillonnage par impaction (conformément à la NF ISO 16000-18) ou par filtration (conformément à la NF ISO 16000-16). Cette méthode convient également à la culture des moisissures à partir d'un prélèvement de poussière, d'un échantillonnage de matériaux ou d'un prélèvement de surface (NF ISO 16000-21).

Les boîtes de gélose (gélose DG18 et gélose à l'extrait de malt ou gélose à la pomme de terre) obtenues par impaction sont directement incubées à l'endroit pendant 7 jours à 25 ± 3 °C. Pour des applications spécifiques, il est possible d'incuber les boîtes à 36 ± 2 °C (par exemple, pour *Aspergillus* spp., autres thermotolérants) ou à 45 ± 2 °C (*Aspergillus fumigatus*). Pour le DG18,

l'incubation peut être prolongée à 10 jours, en particulier si une identification est attendue. A 36 °C ou 45 °C, les moisissures thermotolérantes sont dénombrées au bout de 1 à 3 jours car elles se développent plus rapidement.

Les filtres issus du prélèvement par filtration sont remis en suspension dans une solution saline (0,9 % de NaCl) avec 0,01 % de polysorbate 80. Des dilutions décimales de la suspension sont préparées et les aliquotes étalées sur au moins deux boîtes en parallèle par dilution sur les milieux de culture cités précédemment. Les boîtes de gélose sont ensuite incubées.

Les milieux à l'extrait de malt ou dextrosé à la pomme de terre permettent la détection d'un large spectre de moisissures. Le milieu DG18 (dichloran-glycérol 18%) convient également à la détection de moisissures xérophiles. Le glycérol réduit l'activité de l'eau et le dichloran inhibe la prolifération des colonies des moisissures à croissance rapide, sans empêcher la sporulation. Les colonies à croissance lente peuvent en conséquence se développer sans être envahies par celles à croissance rapide (limitation de la compétition mais maintien global de la biodiversité des échantillons). Le milieu DG18 est donc plus propice au dénombrement des moisissures par contre certains genres fongiques ne peuvent pas s'y développer car la disponibilité en eau est trop faible. C'est pour cela qu'il est utile d'utiliser en parallèle le milieu DG18 et le milieu à l'extrait de malt ou de pomme de terre.

L'identification des moisissures cultivées sur les boîtes de gélose est indispensable pour la plupart des problèmes liés à une croissance fongique dans les environnements intérieurs, notamment dans le cadre d'études liées aux problèmes de santé.

La plage optimale pour l'identification et la quantification du genre ou de l'espèce avec une boîte de culture standard d'environ 90 mm de diamètre est de 20 à 40 colonies. Pour les résultats quantitatifs, il convient qu'au moins 10 colonies du genre ou de l'espèce soient présents sur la boîte de gélose et que le nombre total de colonies soit au maximum de 100. Le calcul de la concentration en moisissures dans l'air intérieur repose principalement sur le nombre de colonies cultivées sur boîtes de gélose DG18. Seules les espèces de moisissures qui ne se développent pas ou qui se développent sporadiquement sur géloses DG18 (par exemple, *Chaetomium*, *Stachybotrys*) sont dénombrées sur gélose à l'extrait de malt ou gélose dextrosée à la pomme de terre. Les résultats de la gélose DG18 et de la gélose à l'extrait de malt ou gélose dextrosée à la pomme de terre ne sont pas compilés mais le calcul repose sur le nombre de colonies sur la gélose ayant connu la plus forte croissance de l'espèce ou du genre en question. Les concentrations sont calculées pour chaque espèces ou genre identifiés. Les espèces de moisissures non identifiées sont regroupées sous la dénomination « autres espèces ». Il convient toutefois d'anticiper l'identification des espèces dominantes au moins au niveau du genre. Les mycélia stériles sont dénombrés séparément. La concentration totale en moisissures est calculée en effectuant la somme des concentrations des espèces et des genres, y compris les colonies non identifiées et les colonies stériles.

La norme NF ISO 16000-20 « Détection et dénombrement des moisissures – Détermination du nombre total de spores » publiée en mars 2015 spécifie les exigences d'échantillonnage des moisissures dans l'air intérieur et comptage des spores fongique au microscope. La concentration totale en spores, notamment les spores cultivables et non cultivables, est déterminée. Aucune culture n'est effectuée.

La norme NF ISO 16000-16 « Détection et dénombrement des moisissures – Echantillonnage par filtration » publiée en février 2009 précise les exigences d'échantillonnage de longue durée (de 0,5 h à plusieurs heures) des moisissures dans l'air intérieur par filtration. Ce document ne convient pas pour l'échantillonnage individuel. Il aborde la récupération des spores à partir des filtres en gélatine associés à des filtres en polycarbonate, la description technique d'un dispositif de filtration approprié et les essais de validation de la méthode. Le prélèvement d'un échantillon pour détection ultérieure des moisissures par culture après suspension est effectué conformément à la NF ISO 16000-17.

L'échantillonnage est généralement réalisé à une hauteur de 0,75 à 1,5 m du sol. Veiller à ne pas aspirer de poussière domestique sédimentée dans le dispositif en cas d'échantillonnage à faible hauteur. Le volume d'air prélevé par heure ne doit pas dépasser 10% du volume de la pièce. Il est recommandé de réaliser plusieurs prélèvements avec des durées d'échantillonnage différentes surtout lorsque le niveau de concentration en spores fongiques attendu est inconnu. Réaliser au moins un blanc de site de préférence au milieu de la série de prélèvement.

L'efficacité physique d'échantillonnage des filtres en gélatine comme des filtres en polycarbonate est de plus de 95% pour les moisissures dont le diamètre aérodynamique est > 1 µm. Le dispositif d'échantillonnage est prévu pour détecter les particules de la taille des spores de moisissures (>1 µm à 30 µm). L'effet de la dessiccation dépend de la température, de l'humidité relative, de la durée de l'échantillonnage au moment du mesurage ainsi que du type de moisissure. La plupart des spores de moisissures est relativement insensible à la dessiccation. Par conséquent, la méthode de filtration peut être employée sans difficulté.

Renseigner les conditions de transport (température, humidité, durée). La température au cours du transport ne doit pas dépasser la température d'incubation. Traiter les échantillons de préférence dans les 24 h, pas plus de 48 h après la fin de l'échantillonnage.

C. Analyse des données de la littérature relative à la mise en œuvre de méthodes de mesure par culture

La méthode de mesure par culture est une méthode historique largement employée pour caractériser une contamination fongique. L'analyse des données de la littérature a été proposée afin de synthétiser les données de concentrations notamment en flore fongique totale:

Une compilation des niveaux moyen, médian et maximal a été faite sans critères de sélection. Aussi des différences de milieux de culture, de température d'incubation et le nombre d'échantillons sont associées à ce recueil de données. Elles sont aussi associer à des couples de prélèvement et d'analyse.

L'analyse de ces données dans l'air par des prélèvements par impaction en milieu solide et analyse par culture a permis de faire ressortir un niveau représentant des situations anormales et dépassé dans 5% des lieux investigués (correspondant au percentile 95). Ce niveau critique de 1000 UFC.m^{-3} a également été proposé par différents organismes internationaux (Rao, 1996).

Tableau 33 : Synthèse des niveaux moyen, médian et maximal en flore totale mesurée par culture dans des logements et écoles issus de la revue de la littérature

Auteur (date)	type environnement	moyenne	médiane	max	remarque
		UFC.m^{-3}			
Kim *et al.* 2007	écoles, Suède	360			
LeBouf, 2008	Logement, USA	76,7	47,6	691	
Lee et al. 2006	*logements, Corée*	313			saison sèche
Frankel *et al.* 2012	logements, Danemark		26	257	
Frankel *et al.* 2012	logements, Danemark		69		
Godish *et al.* 2006	logements, USA	798			moyenne des moyennes G
Haas *et al.* 2007	logements, Autriche		435	3000	maisons non moisis
			2350	*8000*	*maisons moisis*
Lee *et al.* 2006	logements, USA		89	1362	
Li *et al.* 2006	logements, Taïwan	587		1827	
Canha *et al.* 2011	écoles, Portugal	781			hivers

Auteur (date)	type environnement	moyenne	médiane	max	remarque
Catranis *et al.* 2006	logements, USA			6500	
Chan, 2009	Bureaux, Hong Kong	147			choix de l'évaluation la plus élevée
Goncalves, 2010	Logements, Brésil	436			hiver
Dassonville *et al.* 2008	logements, France	232	240	2206	
Gomez *et al.* 2006	logements, Espagne			1666	
Seo et al. 2014	*logements, Corée*	135,5			asthmatiques
		85			non asthmatiques
Bex *et al.* 2006	Logements, France		225		
			380		
Ceylan, 2013	logements	35,9			asthmatiques
		34,3			non asthmatiques
Jones, 2011	Domiciles, USA		501	3388	asthmatiques
			481	3437	non asthmatiques
Jurado, 2009	établissement scolaire, Brésil	1001,3			salles de classes non ventillées
		367			salles de classes avec air conditionné
Ozkutuk, 2008	Domiciles, Turquie	35,45			
Ceylan, 2006	Logements, Turquie	36,1			asthmatiques
		34,7			non asthmatiques
Inal, 2007	Logements, Turquie	37,5			
Meng, 2012	Logements, USA	5,92		1333	asthmatiques
		5,19		1333	non asthmatiques
Mota, 2008	Domicile, USA	56			
Phipps, 2006	Logements, Nouvelle Zélande	350		1350	
Reboux, 2009	Logements, France	1116			logements insalubres
		338			logements patients allergiques
		405			controles
Rivier, 2014	Logements, France		195		
Roda, 2011	Crèches, France		120	578	salles de jeu
			76	117,5	chambres
Ryan, 2013	Logements, USA	569			
Salonen, 2014	Ecoles, Australie			1452	
Reanprayoon, 2012	Echoppes de marché, Thailande			4590	
Roussel, 2008	Logements, France	230		2440	
Basilico, 2007	Domiciles, Argentine	977,24		3090	
Crawford, 2009	Domiciles, USA	913	572		
Soleimani, 2013	Université, hopitaux, écoles	621,2	561,6	1560	valeurs en hiver

Auteur (date)	type environnement	moyenne	médiane	max	remarque
Viegas, 2014	Maisons médicalisées, Portugal	228			aires de stockage
	MOYENNE	**924**	**399**	**2491**	
	95%	**1087**	**1241**	**6725**	
	N	**26**	**13**	**18**	

Annexe 8.2 : Méthodes de mesure reposant sur l'analyse par biologie moléculaire

Les techniques de biologiques moléculaires étaient peu développées et utilisées en mycologie en 2006. De réelles avancées ont eu lieu depuis et sont décrites plus largement dans le corps du rapport. Contrairement à l'analyse par culture qui a fait l'objet d'une plateforme méthodologique et de normalisation, les techniques de biologie moléculaire, représentées essentiellement par la méthode de réaction en chaine par polymérase (qPCR) sur laquelle se base l'indice Environmental Relative Moldiness Index (ERMI) et la métagénomique manque encore de standardisation.

Les données de la littérature relative à la mise en œuvre de ces méthodes de mesures sont synthétisées ci-dessous

ERMI - qPCR

Des index ERMI élevés sont ainsi associés au développement de l'asthme (Reponen *et al.*, 2011) et à des exacerbations de crises d'asthme (Kercsmar *et al.*, 2006). Il est cependant à noter que la division des espèces en groupe 1 et groupe 2 est basée sur la présence ou non de ces moisissures dans des habitations après dégâts des eaux (Vesper, 2011). Comme l'humidité et les moisissures sont associées en général à des signes respiratoires (Mendell, 2011 ; Kanchongkittiphon, 2015), il est cohérent de trouver en grand nombre les espèces associées aux dégâts des eaux comme associées aux signes respiratoires.

Cet index est le point central de nombreuses publications [interrogation PubMed ERMI [All Fields] donne 24 publications pertinentes au 17/02/16], la plupart co-signées par leurs promoteurs américains et parfois co-financées par l'agence américaine EPA (U.S. Environmental Protection Agency) (Méheust, 2013 ; Goh, 2014).

Une récente publication pondère la stratégie proposée en recentrant les tests qPCR sur les moisissures pertinentes pour le pays considéré, dans ce cas précis la Finlande (Täubel, 2015). L'analyse détaillée des chiffres impactant sur la valeur de l'index montre que quelques moisissures seulement sont responsables de la majeure partie de la valeur de l'index. Ainsi, *Aspergillus restrictus*, *Penicillium brevicompactum* sont majeurs dans le groupe 1 et *Cladosporium herbarum* dans le groupe 2 en Finlande et négligeables aux USA (Tableau 1 de l'article Taubel *et al.* (2015)). De même, dans un hôtel de Singapour, *Aspergillus penicillioides* et *Penicillium spinulosum* impactent fortement sur l'index dans le groupe 1 et *Cladosporium cladosporioides* impacte par son absence dans le groupe 2, à l'inverse des USA (Goh ,2014). En France, une étude a utilisé cet index pour 20 maisons avec ou sans moisissures et a comparé les résultats à 1083 maisons américaines. Les résultats ne sont pas exprimés en moyenne géométrique et sont donc non intégrables dans le Tableau 1 de l'article Taubel *et al.* (2015). Quelques études ayant étudié la flore fongique intradomiciliaire montrent que de nombreuses espèces dominantes telles que *Aspergillus glaucus*, *Ulocladium* spp., *Fusarium* spp., *Geotrichum* spp. ne sont pas comprises dans le pool des espèces ciblées par l'ERMI (Bellanger 2009 ; Boutin-Forzano, 2004 ; Dassonville,

2008 ; Reboux, 2009). Il semble donc difficile que même un jeu de 36 espèces puisse refléter le polymorphisme attendu dans chaque région géographique. Ceci rejoint également une publication récente montrant l'importance du lieu pour la flore fongique (Barberan, 2015), d'autant que de fortes variations saisonnières sont attendues (Dassonville, 2008). Les auteurs finlandais concluent donc à une meilleure valeur de l'index quand celui-ci est réduit à une dizaine d'espèces pertinentes pour leur pays (Täubel, 2015).

Pour proposer un test qPCR consensuel, la validation analytique des tests qPCR est également nécessaire (voir paragraphe ci dessus X.X.X. *Polymerase chain reaction quantitative en temps réel (qPCR))*. Les qPCR inclues dans l'index ERMI n'ont pas été validées avec ces exigences, en particulier la LOD (limit of detection) n'est pas expérimentalement établie mais extrapolée avec une limite théorique du nombre de conidies détectables pour un organisme donné (Haugland, 2004). La plupart des amorces ERMI n'étant pas spécifiques d'espèce, des espèces non cibles peuvent aussi être amplifiées (Haugland, 2004). Les auteurs minimisent ce risque en montrant que les espèces non cibles sont 10^3 moins bien amplifiées (Haugland, 2004). Cependant, dans un prélèvement d'environnement, une surreprésentation de conidies d'une espèce non cible par rapport à une espèce cible d'un facteur 10^3 est tout à fait possible. De plus, le test ERMI ne comprend pas de contrôle interne de l'amplification, ce qui est maintenant requis pour les tests diagnostiques (Bustin et al, 2009). Il semble donc que le test dans sa forme actuelle puisse être amélioré.

Pour les moisissures, se rajoute le problème du contrôle d'extraction de l'ADN. En effet, la paroi fongique doit être détruite pour libérer l'ADN et le rendre accessible à la polymérase. Il est difficile de concevoir un tel contrôle représentatif de tous les champignons de l'environnement et il n'existe pas de solution actuelle. Dans la méthode ERMI, les auteurs utilisent la levure *Geotrichum candidum* qu'ils ajoutent systématiquement à raison de 10^6 spores dans chaque échantillon (Haugland, 1999; Haugland, 2004). Celui-ci ne peut servir de contrôle d'extraction de l'ADN, *Geotrichum candidum* étant assez éloigné des autres moisissures à paroi beaucoup plus difficile à lyser. Il ne peut non plus être utilisé comme contrôle interne de l'amplification car les *Geotrichum* spp. peuvent être naturellement présents dans l'environnement (Dassonville, 2008).

De même, alors que de nombreuses publications utilisent une quantification absolue, établie en nombre de génomes ou de microorganismes par unité de volume ou de poids, par rapport à une gamme étalon spécifique de chaque espèce (McDewitt, 2004; Scherer, 2014; Bellanger, 2009; Bellanger, 2010; Zeng, 2006), l'utilisation de *Geotrichum candidum* comme référence pour la quantification relative de chaque espèce de l'ERMI est discutable. En effet, elle soustend d'une part que toutes les spores de moisissures se comportent pendant l'extraction de la même manière, et que ce comportement est identique à celui des spores de *Geotrichum candidum*, et, d'autre part, que toutes les amplifications pour les espèces cibles ont le même rendement que pour *Geotrichum candidum* dans toutes les conditions possibles. Par ailleurs, cela suppose que le nombre de copies des ADN ribosomaux utilisés comme cible sont identiques pour toutes les espèces, alors que des variations au sein d'une même espèce sont déjà rapportées (Herrera, 2009). Enfin, comme pour tout test PCR, manipuler en grande quantité des amplicons, comme ceux générés par l'amplification de *Geotrichum candidum* pour chaque échantillon expose au risque de contamination des laboratoires avec le risque de faux positifs ou, plus insidieusement car difficile à quantifier, à des erreurs de calculs des quantités détectées pour les espèces ciblées.

Conclusion

Si ne pas se restreindre à une seule espèce pour appréhender le milieu extérieur semble indispensable, le choix figé des espèces ne semble pas approprié pour les différentes situations géographiques. Une stratégie se focalisant sur les espèces propres à la zone géographique étudiée semble donc plus pertinente, en développant des tests certes plus réduits quant au nombre d'espèces évaluées, mais dont la reproductibilité technique peut être plus facilement contrôlée (voir infra). Cela permet de plus de diminuer les coûts en réduisant le nombre de tests. Réduire le nombre d'espèces testées peut aussi avoir un sens médical car le risque d'exacerbation de crises d'asthme semble lié à certaines espèces (*Aspergillus, Penicillium, Cladosporium et*

Alternaria) couramment mesurées en culture, même si certaines, prises isolément (*Cladosporium et Alternaria*), sont aussi associées au risque d'exacerbation d'asthme (Sharpe, 2015). De plus, le choix d'analyse des produits de qPCR par quantification relative pour le calcul de l'index ERMI semble trop sujet à des variations expérimentales. Des études de reproductibilité et répétabilité sont donc souhaitables par des auteurs indépendants des promoteurs de la technique. Il ne semble donc pas pour l'instant que cette méthode ERMI soit techniquement robuste et facilement généralisable à d'autres laboratoires.

Métagénomique

Si le séquençage haut débit a été utilisé pour l'étude du microbiome dans de nombreux domaines, à la fois chez l'homme (microbiote respiratoire, intestinal ou cutané), et dans l'environnement (à partir de prélèvement d'eau, de terre, d'air,…), la plupart des études restent à ce jour centrées sur le microbiome bactérien. Le microbiome fongique en environnement intérieur a fait l'objet de très peu d'études ; nous en avons analysé 7, toutes réalisées aux Etats-Unis (Adams, 2013a ; 2013b ; 2013c ; Dannemiller, 2014 ; 2015 ; Kettleson, 2015 ; Nonnenmann, 2012).

Les bâtiments étudiés sont variés (appartements sans problème de moisissures, bâtiment avec dégât des eaux avant et après remédiation, salles de cours universitaire, maisons de soin infirmier,…). Deux études ciblent des logements d'enfants asthmatiques (Dannemiller *et al.* , 2014, 2015), mais seule une évalue l'effet sur la santé des moisissures sur le développement de l'asthme (Dannemiller *et al.* , 2014). Les autres études visent la caractérisation de la flore fongique aérienne et l'identification des facteurs déterminants sa composition (caractéristiques de l'habitat et de ses occupants, influence de la flore extérieure ou de la flore présente sur les surfaces,…). Les effectifs sont généralement réduits (de 2 à 5 pour les plus faibles). L'étude la plus récente inclut l'analyse de 198 logements (Dannemiller *et al.* , 2015).

Le plus souvent, la recherche de moisissures est effectuée à partir de prélèvements de poussières, soit par aspiration, soit par sédimentation passive. Des prélèvements d'air sont effectués dans une seule étude (Rittenour *et al.* , 2014). Une étude, qui réalise des prélèvements de surface par écouvillonnage, retrouve la présence d'ADN de micromycètes (correspondant à 62 taxons) dans les témoins négatifs (Adams *et al.* , 2013a).

Les méthodes utilisées pour l'extraction d'ADN sont variables, mais toutes incluent un pré-traitement mécanique, nécessaire à la lyse de la paroi fongique. Seule une étude cible d'ADNr 18S (Nonnenmann *et al.* , 2012), les autres études ciblant les régions ITS. Le plus souvent, les résultats obtenus sont comparés à d'autres méthodes (comptage microscopique, culture et/ou qPCR).

Le nombre de séquences obtenues par échantillon varie de 600 à près de 9000. Le nombre d'OTU (correspondant aux espèces identifiées) est beaucoup plus élevé qu'en culture, jusqu'à 966. Certaines études retrouvent les mêmes espèces prédominantes qu'en culture (notamment *Penicillium, Cladosporium* ou *Alternaria*) mais plusieurs études mettent en évidence une fréquence élevée de Basidiomycètes, notamment de *Cryptococcus* sp. et *Malassezia* sp. (Adams *et al.* , 2013a, 2013b, 2013c). A l'inverse, certains auteurs retrouvent des espèces majoritaires différentes de celles isolées en culture, telles que *Epicoccum* spp., *Leptosphaerulina chartarum*, ou *Wallemia sebi* (Dannemiller *et al.* , 2015;). Kettleson *et al.* identifient 33 champignons associés à un ERMI élevé (dont *Cyberlindnera jadinii, Leptospaeria contecta, Phoma* sp., *Eurotium* sp., *Devriesia pseudoamericana*, *Myrotheccium roridum, Phaephysicia ciliata*) et 3 à un ERMI faible (dont *Leptosphaerulina* sp., *Leptosphaerulina chartarium*); 44 sont associés à une humidité élevée, 3 à une humidité faible; 57 associés à un logement âgé, 10 à des logements plus récents (Kettleson *et al.* , 2015).

Dans toutes les études, de nombreuses d'OTU correspondent à des espèces dont les séquences ne sont pas disponibles à ce jour dans les bases de données, et n'ont pu être identifiées.

En ce qui concerne la diversité, Adams *et al.* retrouvent une richesse plus faible en été qu'en hiver, mais ce résultat est limité par une sous-estimation probable de la diversité puisque les auteurs

estiment que seuls 20,7% à 58,1% des OTUont été détectés (Adams *et al.*, 2013c). Pour Kettleson *et al.* la richesse des populations fongiques (mais pas bactériennes) est positivement corrélée à l'âge de l'habitat, la valeur de l'ERMI, et l'humidité relative, mais pas au nombre d'occupants ni à la température. Ces auteurs mettent en évidence une influence des animaux (chiens, chats) sur la flore bactérienne mais pas sur la flore fongique (Kettleson *et al.* , 2015).

Annexe 8.3 : Méthodes de mesure reposant sur la recherche de composants ou métabolites fongiques

Depuis les méthodes décrites dans le rapport de 2006 du CSHPF, des approches nouvelles ont été identifiées pour le comptage particulaire, les antigènes, la mesure de la charge ou l'activité fongique (ATP, N-acetylhexosaminidase (NAHA) et enfin les composés organiques voltiles d'origine microbiologique (mCOV).

Les données de la littérature relative à la mise en œuvre de ces méthodes de mesures sont synthétisées ci-dessous

Comptage particulaire

Cette approche peut avoir un intérêt en chambre expérimentale pour contrôler la génération d'un aérosol fongique ou par exemple pour comprendre les mécanismes de libération des spores et des fragments fongiques dans l'air. Ainsi, Gorny & Lawniczek-Walczyk (2012) ont montré, en chambre expérimentale sur des cultures pures d'*Aspergillus versicolor*, de *Cladosporium cladosporioides* et de *Penicillium chrysogenum*, que la libération de spores et de fragments fongiques dépendait de la direction et de la vitesse du flux d'air ainsi que de l'espèce fongique considérée. Ainsi un flux d'air tourbillonnant était capable de libérer plus de $3,4\times10^5$ fragments et 3×10^5 spores à partir d'une surface contaminée d'1 cm^2 ce qui était significativement plus élevé qu'avec un flux perpendiculaire. Le plus grand nombre de particules était libéré par *Aspergillus versicolor.*

Allergènes fongiques

Reponen *et al.* (2007) ont observé qu'il existe des niveaux considérablement plus élevés de fragments fongiques que de spores intactes dans des bâtiments contaminés par des moisissures, ce qui rend intéressante la recherche des antigènes fongiques pour caractériser un environnement intérieur par rapport aux méthodes classiques par culture qui ne permettent de détecter que les spores revivifiables. Prester *et al.* (2011) ont montré que dans des environnements peu exposés aux bioaérosols, la détermination des antigènes fongiques majeurs Alt a 1 et Asp f 1 dans la poussière par tests ELISA est limitée. En effet, pour Alt a 1, le dosage mesure les allergènes présents dans les spores, hors la concentration en spores dans la plupart des échantillons de poussière domestique est trop faible pour permettre la détection. Pour Asp f 1, l'allergène n'est détecté que dans les spores ayant germé, ce qui est rare dans la poussière qui est un milieu sec ne favorisant pas la germination. Par contre, dans des environnements riches en bioaérosols (agriculture, industrie du bois par exemple), la détermination de ces antigènes est élevée. Salo *et al.* (2008) dans une étude transversale sur un échantillon national représentatif de 831 logements répartis dans 75 sites à travers les États-Unis ont montré que pour des sujets atopiques, une charge allergénique élevée (pour au moins 4 des allergènes suivants : Der p 1, Der f 1, Can f 1; Fel d 1; Bla g 1; protéine urinaire de souris ; Alternaria alternata) augmente le risque d'avoir des symptômes d'asthme (odds ratio, 1.81; 95% CI, 1.04-3.15). Ils ont proposé un seuil de coupure à 7 $\mu g.g^{-1}$ au-dessus duquel la charge allergénique est considérée comme élevée pour l'ensemble des allergènes d'*Alternaria spp* dans la poussière domestique. Les principaux avantages mis en avant pour les méthodes immunochimiques ELISA sont la rapidité et la possibilité de traiter un nombre important d'échantillons en même temps.

Dans l'étude de Sercombe *et al.* (2014), 39 patients atteints de mucoviscidose, d'asthme sévère ou de rhinite allergique ont été recrutés par le biais des cliniques de médecine respiratoire situées à Sydney : quatre-vingt sept pourcent des sujets avaient des tests cutanés positifs à au moins un extrait de moisissures et 46% étaient polysensibilisés aux moisissures ; soixante deux pourcent des sujets avaient des IgE sériques spécifiques à une ou plusieurs des 3 moisissures testées. Les extraits fongiques testés correspondaient à *Alternaria alternata*, *Aspergillus* mix, *Cladosporium* mix, *Epicoccum purpurascens*, *Helminthosporium halodes* et *Penicillium* mix pour les tests cutanés et des antigènes d'*Alternaria alternata*, d'*Aspergillus fumigatus* et de *Penicillium chrysogenum* ont été utilisés pour le dosage d'IGE sériques. De plus, 23% des sujets présentaient une sensibilisation à l'allergène de chat et 51% aux acariens.

Dans cette étude, les aérosols ont été prélevés avec des capteurs individuels IOM équipés d'une membrane en ester de cellulose de porosité 0,8-1 µm, selon un débit nominal de 2 L/min. Les capteurs ont été positionnés dans la chambre et le salon, à un mètre de hauteur et les aspirations ont été réalisées séquentiellement pour collecter un échantillon représentatif des différentes activités d'une journée (06:00–07:00, 08:00–09:00, 11:00–12:00, 15:00–16:00, 19:00–20:00, and 22:00–23:00 h) notamment le sommeil, les repas, l'habillement, les loisirs domestiques (télévision/lecture) et le temps passé à s'occuper des enfants.

Les membranes de prélèvement ont ensuite été placées dans une chambre humide pendant la nuit pour permettre la germination des spores afin d'augmenter le seuil de détection de la technique analytique. Après perméabilisation des particules fongiques, une incubation est réalisée avec les IgE sériques du patient. Les réactions antigènes-IgE sont révélées par le système biotine/streptavidine avec des anticorps de chèvre biotinilés anti IgE humaines. Les échantillons ont été examinés au microscope à balayage laser confocal et les particules immunofluorescentes ont été identifiées et dénombrées.

Les particules fongiques se liant aux IgE des sujets de l'étude étaient 1,7 (chambre) à 1,4 (salon) plus concentrées que celles des autres aéroallergènes réunis (chat, blattes, acariens). Les conidies se liant préférentiellement aux IgE dans cette étude appartenaient principalement aux genres *Cladosporium, Aspergillus*/*Penicillium*. Les auteurs concluent que la principale source d'aéroallergènes dans les maisons de Sydney est constituée par les spores fongiques inhalables.

Charge ou activité fongique

Yoon *et al.* (2010) ont utilisé cette méthode pour mesurer les fluctuations de la concentration relative de l'aérosol biologique dans un immeuble de bureaux à Séoul et en particulier pour évaluer l'efficacité des dispositifs de traitement de l'air (centrales de traitement d'air, épurateurs). Les prélèvements d'air ont été réalisés avec un impacteur « maison » fonctionnant à un débit nominal de 30 L/min et les temps de prélèvement étaient de 5, 10 et 20 minutes.

Les auteurs ont trouvé une bonne linéarité (R2 = 0,8189) entre les résultats obtenus par la mesure de l'ATP et les méthodes conventionnelles par culture (bactéries, moisissures, actinomycètes).

Adhikari *et al.* (2013), en utilisant cette approche analytique, ont montré que dans l'air les fragments fongiques de petite taille (< 1 µm) représentent une part importante de l'aérosol fongique (22,7% en moyenne). Les prélèvements d'air ont été réalisés pendant 24h à 3,5 L/min dans la chambre ou le salon de 15 logements de la cohorte CCAPS avec un cyclone à 2 étages développé par le NIOSH permettant la sélection de 3 fractions granulométriques : < 1 µm, 1,0 à 1,8 µm et > 1,8 µm. Dans cette étude, la caractérisation de la biomasse fongique dans la fraction submicronique de l'aérosol fongique est rendue possible par dosage de la NAHA, ce qui n'est pas le cas avec les techniques classiques par culture ou par comptage de spores au microscope. Les auteurs soulignent que les fragments fongiques de taille inférieure à 1 µm participent pour une part importante à l'exposition à l'aérosol fongique et que pour optimiser l'évaluation des risques sur la santé des moisissures en suspension dans l'air, les techniques qui permettent le recueil et l'évaluation de la charge fongique dans cette fraction granulométrique devraient être employées.

D'autre part, les auteurs indiquent que dans des études de terrain, le dosage de la NAHA a permis de repérer des immeubles ayant des problèmes de développement fongique.

Dans la recherche de l'étiologie de la sarcoïdose, Terčelj et al (2011) ont montré que dans les logements de patients en cours de traitement (nouvellement diagnostiqué ou en récurrence, n=55) l'activité de la NAHA était significativement plus élevée que dans les logements des individus contrôles (n=30). Pour les prélèvements, les individus étaient équipés d'une pompe portable munie d'un filtre en ester de cellulose de porosité 0,8 µm. Le prélèvement durait 4 heures pendant que l'individu était à l'intérieur de son logement dont les portes et fenêtres étaient fermées depuis plusieurs heures avant le prélèvement. Le volume d'air recueilli correspondait à environ 2,5 m^3.

COVm

En mars 2007, le CSTB a breveté l'indice (pour les logements et les différents lieux historiques). http://www.google.dj/patents/EP2130043A1?cl=fr

Les COV sont capturés sur un tube adsorbant Tenax permettant l'échantillonnage des composés de chaine carbonée C4 à C20. Les composés piégés sont désorbés thermiquement, séparés par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme puis identifiés par spectrométrie de masse.

Contrairement aux méthodes classiques de traitement de données basées sur l'identification des COV émis, la méthode utilisée pour le calcul de l'ICF examine tous les chromatogrammes sans préjuger du type de composés, elle amplifie et révèle des profils spécifiques aux moisissures qui sont généralement masqués par les émissions des matériaux. La sélection d'ions spécifiques permet de déterminer une signature de la croissance fongique. Les COV issus de la biodégradation ou du métabolisme des moisissures ont été identifiés à partir de l'étude de l'émission du développement de trois espèces fongiques fréquemment isolées dans les logements (*Aspergillus versicolor, Aspergillus niger et Penicillium brevicompactum*) sur six matériaux de construction fréquemment rencontrés dans les environnements intérieurs et de composition chimique différente (fibre de verre, toile de verre, papier peint vinyle, dalle de plafond, plâtre et liège). Cette approche a permis la sélection de 19 traceurs (COV) dont la spécificité (à une espèce et/ou un matériau) a été déterminée. La présence ou l'absence de ces COV prédéterminés est recherchée dans l'échantillon à analyser. Ces COV prédéterminés comprennent:

- des COV émis indépendamment de l'espèce fongique et de son support et qui n'est émis que par des espèces fongiques ;
- des COV émis indépendamment de l'espèce fongique et du support, mais qui peut également avoir d'autres origines biologiques ; et
- des COV émis en fonction de l'espèce fongique et/ou du support.

Le calcul de l'ICF est basé sur l'incrémentation suivante : la présence d'un COV est incrémentée d'une valeur « 1 » si la présence du COV indique la présence d'une contamination fongique et d'une valeur « 0 » si la présence du COV ne permet pas de conclure à la présence d'une contamination fongique. L'absence d'un COV est incrémentée d'une valeur « -1 » si l'absence du COV indique l'absence d'une contamination fongique et d'une valeur « 0 » si l'absence du COV ne permet pas de conclure à l'absence d'une contamination fongique. L'ICF est calculé par addition des incréments qui ont été attribués à la présence ou à l'absence de chacun des COV prédéterminés. Le résultat de cette addition, c'est-à- dire l'ICF est donc soit une valeur négative, soit égale à zéro, soit une valeur positive. Si la valeur de l'ICF est inférieure ou égale à 0, ceci indique l'absence d'une contamination fongique. Un ICF strictement positif indique la présence d'une contamination fongique. L'ICF donne une réponse binaire, il n'est pas quantitatif. L'ICF a été validé dans onze logements.

Plus récemment, le CSTB a déposé un nouveau brevet pour une balise de surveillance connectée intégrant l'ICF. La balise est installée dans l'environnement à surveiller. Elle analyse en temps réel les informations collectées et permet d'alerter de tout développement fongique avant qu'il ne soit visible à l'œil nu. http://www.google.com/patents/WO2012069752A1?cl=fr

L'ICF a été appliqué sur les données de la campagne nationale « Logements » réalisée entre octobre 2003 et décembre 2005 par l'OQAI. Sur les 496 logements qui ont pu faire l'objet de l'étude, 37% étaient contaminés par des moisissures selon l'ICF et 15% d'entre eux ne s'accompagnaient pas de signes visibles de moisissures. Inversement 5 % des logements présentaient des signes de moisissures visibles sans qu'un développement fongique ne soit constaté par le biais des résultats de l'ICF (Moularat, 2008). En 2013, Hulin *et al.* ont montré, sur 431 logements de la campagne nationale OQAI, une association positive, en particulier dans les zones rurales, entre l'ICF et respectivement l'asthme (OR = 2,95 ; 95% IC 1,10-7,95) et les symptômes de bronchites chroniques (OR = 3.35 ; 95% IC 1,33- 8,48) à l'aide d'un questionnaire auto administré dérivé de celui de l'étude European Community Respiratory Health Survey (ECRHS).

Dans l'enquête Esmha (Effets sanitaires des moisissures dans l'habitat, pilote d'une étude épidémiologique en Ile-de-France) de l'ORS Ile de France, sur 105 logements, 17 % de l'échantillon présentaient des moisissures visibles, et l'analyse de l'ICF a montré une grande sensibilité puisqu'il était positif dans 80 % des logements testés.

Une étude réalisée dans 94 logements situés en zones urbaine ou rurale à proximité de Clermont-Ferrand, montre une différence significative entre la détection d'une contamination fongique intérieure selon l'ICF et la détection visuelle des moisissures (Moularat 2011). Des moisissures étaient détectées visuellement dans 19% des logements alors que l'ICF était positif dans 59% d'entre eux, cette différence étant encore plus marquée au sein des logements urbains.

La différence de proportion entre la détection visuelle des moisissures et l'ICF pourrait s'expliquer selon le CSTB :

- lorsque ICF > moisissures visibles : soit par la présence de moisissures cachées non détectées par l'enquêteur, soit par une contamination récente pas encore détectable visuellement,

- lorsque ICF < moisissures visibles : soit par une erreur d'appréciation du technicien enquêteur qui a pu confondre taches visibles d'humidité ou de salpêtre avec des traces de moisissures, soit par un développement fongique qui aurait pu être stoppé après un changement environnemental (réparation d'une fuite d'eau par exemple).

Cependant, dans les trois études citées aucune nouvelle investigation n'a été conduite dans les logements pour vérifier ces hypothèses.

Le dépôt d'un brevet sur le calcul de l'ICF est un facteur limitant son utilisation par les laboratoires équipés en chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse qui souhaiteraient le tester librement.

Bibliographie

Adams RI, Miletto M, Taylor JW, Bruns TD (2013a) Dispersal in microbes: Fungi in indoor air are dominated by outdoor air and show dispersal limitation at short distances. ISME Journal 7(7), 1262-1273.

Adams RI, Miletto M, Taylor JW, Bruns TD (2013b) The diversity and distribution of fungi on residential surfaces. PLoS ONE 8(11). [In English]

Adhikari A, Reponen T, Rylander R (2013) Airborne fungal cell fragments in homes in relation to total fungal biomass. Indoor Air 23(2), 142-147. [In English]

Basilico MdlLZ, Chiericatti C, Aringoli EE, Althaus RL, Basilico JC (2007) Influence of environmental factors on airborne fungi in houses of Santa Fe City, Argentina. Science of the Total Environment 376(1-3), 143-150. [In English]

Bellanger AP, Reboux G, Roussel S, Grenouillet F, Didier-Scherer E, Dalphin JC, Millon L (2009) Indoor fungal contamination of moisture-damaged and allergic patient housing analysed using real-time PCR. Letters in Applied Microbiology 49(2), 260-266. [In English]

Bex V, Barral S, Dusséaux M, Bordenave L, Mouilleseaux A, Squinazi F (2006) Housing environmental audits: the experience of the hygiene laboratory of Paris city. Journal de Mycologie Medicale 16(4), 197-203. [In French]

Boutin-Forzano S, Charpin-Kadouch C, Chabbi S, Bennedjai N, Dumon H, Charpin D (2004) Wall relative humidity: a simple and reliable index for predicting Stachybotrys chartarum infestation in dwellings. Indoor Air 14(3), 196-9. [In eng]

Canha N, Ribeiro M, Do Carmo Freitas M, Almeida-Silva M, Almeida SM, Verde SC, Wolterbeek HT Fungi, bacteria and pollens seasonally quantified at 3 basic schools in Lisbon: Evaluation of ventilation need. In 'Airborne Infection Control - Ventilation, IAQ, and Energy Conference, IAQ 2010', 2011, Kuala Lumpur,

Catranis CM, Anagnost SE, Zhang L, Zhou S, Fernando A, Morey S, Wang CJK (2006) A new sub-sampling method for analysis of air samples collected with the Andersen single-stage sampler. Aerobiologia 22(3), 177-184. [In English]

Ceylan E, Doruk S, Genc S, Ozkutuk AA, Karadag F, Ergor G, Itil BO, Cimrin AH (2013) The role of molds in the relation between indoor environment and atopy in asthma patients. Journal of Research in Medical Sciences 18(12), 1067-1073. [In English]

Ceylan E, Ozkutuk A, Ergor G, Yucesoy M, Itil O, Caymaz S, Cimrin A (2006) Fungi and indoor conditions in asthma patients. J Asthma 43(10), 789-94.

Chan WY, Mui KW, Wong LT Airborne fungi in air-conditioned offices of Hong Kong: Changes in the past decade. In '1st International Postgraduate Conference on Infrastructure and Environment, IPCIE 2009', 2009, Hong Kong, pp. 70-74

Crawford C, Reponen T, Lee T, Iossifova Y, Levin L, Adhikari A, Grinshpun SA (2009) Temporal and spatial variation of indoor and outdoor airborne fungal spores, pollen, and (1→3)-β-D-glucan. Aerobiologia 25(3), 147-158. [In English]

Dannemiller KC, Gent JF, Leaderer BP, Peccia J (2015) Influence of housing characteristics on bacterial and fungal communities in homes of asthmatic children. Indoor Air. [In English]

Dannemiller KC, Lang-Yona N, Yamamoto N, Rudich Y, Peccia J (2014) Combining real-time PCR and next-generation DNA sequencing to provide quantitative comparisons of fungal aerosol populations. Atmospheric Environment 84, 113-121. [In English]

Dassonville C, Demattei C, Detaint B, Barral S, Bex-Capelle V, Momas I (2008) Assessment and predictors determination of indoor airborne fungal concentrations in Paris newborn babies' homes. Environmental Research 108(1), 80-85. [In English]

De Gómez Ana S, Torres-Rodríguez JM, Alvarado Ramírez E, Mojal García S, Belmonte-Soler J (2006) Seasonal distribution of Alternaria, Aspergillus, Cladosporium and penicillium species isolated in homes of fungal allergic patients. Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology 16(6), 357-363. [In English]

Frankel M, Bekö G, Timm M, Gustavsen S, Hansen EW, Madsen AM (2012) Seasonal variations of indoor microbial exposures and their relation to temperature, relative humidity, and air exchange rate. Applied and Environmental Microbiology 78(23), 8289-8297. [In English]

Frankel M, Timm M, Hansen EW, Madsen AM (2012) Comparison of sampling methods for the assessment of indoor microbial exposure. Indoor Air 22(5), 405-414. [In English]

Godish TJ, Godish DR (2006) Mold infestation of wet spray-applied cellulose insulation. Journal of the Air and Waste Management Association 56(1), 90-95. [In English]

Goh V, Yap HM, Gutierrez RA, Ng LC, Vesper SS (2014) DNA-based analyses of molds in Singapore public buildings results in a proposed Singapore Environmental Relative Moldiness Index. Trop Biomed 31(4), 663-9. [In eng]

Gonçalves FLT, Bauer H, Cardoso MRA, Pukinskas S, Matos D, Melhem M, Puxbaum H (2010) Indoor and outdoor atmospheric fungal spores in the São Paulo metropolitan area (Brazil): Species and numeric concentrations. International Journal of Biometeorology 54(4), 347-355. [In English]

Haas D, Habib J, Galler H, Buzina W, Schlacher R, Marth E, Reinthaler FF (2007) Assessment of indoor air in Austrian apartments with and without visible mold growth. Atmospheric Environment 41(25), 5192-5201. [In English]

Haugland RA, Vesper SJ, Wymer LJ (1999) Quantitative measurement of Stachybotrys chartarum conidia using real time detection of PCR products with the TaqManTMfluorogenic probe system. Molecular and Cellular Probes 13(5), 329-340.

Haugland RA, Varma M, Wymer LJ, Vesper SJ (2004) Quantitative PCR analysis of selected Aspergillus, Penicillium and Paecilomyces species. Syst Appl Microbiol 27(2), 198-210.

Hulin M, Moularat S, Kirchner S, Robine E, Mandin C, Annesi-Maesano I (2013) Positive associations between respiratory outcomes and fungal index in rural inhabitants of a representative sample of French dwellings. International Journal of Hygiene and Environmental Health 216(2), 155-162. [In English]

Inal A, Karakoc GB, Altintas DU, Guvenmez HK, Aka Y, Gelisken R, Yilmaz M, Kendirli SG (2007) Effect of indoor mold concentrations on daily symptom severity of children with asthma and/or rhinitis monosensitized to molds. Journal of Asthma 44(7), 543-546. [In English]

Jurado S, Julião MDC, Freitas MA, Barros W, Frota O Indoor air quality in Brazilian universities. In '9th International Healthy Buildings Conference and Exhibition, HB 2009', 2009, Syracuse, NY,

Kanchongkittiphon W, Mendell MJ, Gaffin JM, Wang G, Phipatanakul W (2015) Indoor Environmental Exposures and Exacerbation of Asthma: An Update to the 2000 Review by the Institute of Medicine. Environmental Health Perspectives 123(1), 6-20.

Kercsmar CM, Dearborn DG, Schluchter M, Xue L, Kirchner HL, Sobolewski J, Greenberg SJ, Vesper SJ, Allan T (2006) Reduction in asthma morbidity in children as a result of home remediation aimed at moisture sources. Environmental Health Perspectives 114(10), 1574-1580. [In English]

Kettleson EM, Adhikari A, Vesper S, Coombs K, Indugula R, Reponen T (2015) Key determinants of the fungal and bacterial microbiomes in homes. Environmental Research 138, 130-135. [In English]

Kim JL, Elfman L, Mi Y, Wieslander G, Smedje G, Norbäck D (2007) Indoor molds, bacteria, microbial volatile organic compounds and plasticizers in schools - Associations with asthma and respiratory symptoms in pupils. Indoor Air 17(2), 153-163. [In English]

LeBouf R, Yesse L, Rossner A (2008) Seasonal and diurnal variability in airborne mold from an indoor residential environment in Northern New York. Journal of the Air and Waste Management Association 58(5), 684-692. [In English]

Lee JH, Jo WK (2006) Characteristics of indoor and outdoor bioaerosols at Korean high-rise apartment buildings. Environmental Research 101(1), 11-17. [In English]

Lee T, Grinshpun SA, Kim KY, Iossifova Y, Adhikari A, Reponen T (2006a) Relationship between indoor and outdoor airborne fungal spores, pollen, and (1→3)-β-D-glucan in homes without visible mold growth. Aerobiologia 22(3), 227-236. [In English]

Lee T, Grinshpun SA, Martuzevicius D, Adhikari A, Crawford CM, Reponen T (2006b) Culturability and concentration of indoor and outdoor airborne fungi in six single-family homes. Atmospheric Environment 40(16), 2902-2910. [In English]

Li CS, Huang TY (2006) Fluorochrome in monitoring indoor bioaerosols. Aerosol Science and Technology 40(4), 237-241. [In English]

Meheust D, Le Cann P, Reponen T, Wakefield J, Vesper S, Gangneux JP (2013) Possible application of the Environmental Relative Moldiness Index in France: a pilot study in Brittany. Int J Hyg Environ Health 216(3), 333-40. [In eng]

Mendell MJ, Mirer AG, Cheung K, Tong M, Douwes J (2011) Respiratory and Allergic Health Effects of Dampness, Mold, and Dampness-Related Agents: A Review of the Epidemiologic Evidence. Environmental Health Perspectives 119(6), 748-756.

Meng J, Barnes CS, Rosenwasser LJ (2012) Identity of the fungal species present in the homes of asthmatic children. Clinical and Experimental Allergy 42(10), 1448-1458. [In English]

Mota LC, Gibbs SG, Green CF, Payan F, Tarwater PM, Ortiz M (2008) Characterization of seasonal indoor and outdoor bioaerosols in the arid environment of El Paso, Texas. Journal of Environmental Health 70(10), 48-53. [In English]

Moularat S, Hulin M, Robine E, Annesi-Maesano I, Caillaud D (2011) Airborne fungal volatile organic compounds in rural and urban dwellings. Detection of mould contamination in 94 homes determined by visual inspection and airborne fungal volatile organic compounds method. Science of the Total Environment 409(11), 2005-2009. [In English]

Moularat S, Robine E, Draghi M, Derbez M, Kirchner S, Ramalho O (2008) Molds in indoor environments: State of knowledge and determination of fungal contamination of French houses through a chemical index. Pollution Atmospherique(197), 33-46. [In French]

Nonnenmann MW, Coronado G, Thompson B, Griffith WC, Hanson JD, Vesper S, Faustman EM (2012) Utilizing pyrosequencing and quantitative PCR to characterize fungal populations among house dust samples. Journal of Environmental Monitoring 14(8), 2038-2043. [In English]

Ozkutuk A, Ceylan E, Ergor G, Yucesoy M, Itil O, Caymaz S, Cimrin A (2008) The relationship between moulds isolated from indoor air and features of the house environment. Indoor and Built Environment 17(3), 269-273. [In English]

Phipps R, Cunningham M, *et al.* Not just hot air: Methods and preliminary results for the intensive monitoring of emissions and by-products from two types of domestic heaters. In 'Healthy Buildings: Creating a Healthy Indoor Environment for People, HB 2006', 2006, Lisboa, pp. 399-402

Prester L (2011) Indoor exposure to mould allergens. Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju 62(4), 371-380. [In English]

Reanprayoon P, Yoonaiwong W (2012) Airborne concentrations of bacteria and fungi in Thailand border market. Aerobiologia 28(1), 49-60. [In English]

Reboux G, Bellanger AP, Roussel S, Grenouillet F, Sornin S, Piarroux R, Dalphin JC, Millon L (2009) Indoor mold concentration in Eastern France. Indoor Air 19(6), 446-453.

Reponen T, Seo SC, Grimsley F, Lee T, Crawford C, Grinshpun SA (2007) Fungal fragments in moldy houses: A field study in homes in New Orleans and Southern Ohio. Atmospheric Environment 41(37), 8140-8149. [In English]

Reponen T, Vesper S, *et al.* (2011) High environmental relative moldiness index during infancy as a predictor of asthma at 7 years of age. Annals of Allergy, Asthma and Immunology 107(2), 120-126. [In English]

Rittenour WR, Ciaccio CE, Barnes CS, Kashon ML, Lemons AR, Beezhold DH, Green BJ (2014) Internal transcribed spacer rRNA gene sequencing analysis of fungal diversity in Kansas City indoor environments. Environmental Sciences: Processes and Impacts 16(1), 33-43. [In English]

Rivier A, Guillaso M, Flabbée JA (2014) Indoor mould contamination in homes in Lorrain: Preliminary investigation in patients' homes. Revue Francaise d'Allergologie 54(2), 44-50. [In French]

Roda C, Barral S, Ravelomanantsoa H, Dusséaux M, Tribout M, Le Moullec Y, Momas I (2011) Assessment of indoor environment in Paris child day care centers. Environmental Research 111(8), 1010-1017. [In English]

Roussel S, Reboux G, Bellanger AP, Sornin S, Grenouillet F, Dalphin JC, Piarroux R, Millon L (2008) Characteristics of dwellings contaminated by moulds. J Environ Monit 10(6), 724-9.

Ryan TJ, Beaucham C (2013) Dominant microbial volatile organic compounds in 23 US homes. Chemosphere 90(3), 977-985. [In English]

Salo PM, Arbes SJ Jr, Crockett PW, et al (2008). Exposure to multiple indoor allergens in US homes and its relationship to asthma. J Allergy Clin Immunol;121:678-84.

Salonen H, Duchaine C, Mazaheri M, Clifford S, Morawska L (2014) Airborne culturable fungi in naturally ventilated primary school environments in a subtropical climate. Atmospheric Environment. [In English]

Seo S, Choung JT, Cehn BT, Lindsley WG, Kim KY (2014) The level of submicron fungal fragments in homes with asthmatic children. Environmental Research 131, 71-76. [In English]

Sercombe JK, Liu-Brennan D, McKay KO, Green BJ, Tovey ER (2014) Domestic exposure to fungal allergenic particles determined by halogen immunoassay using subject's serum versus particles carrying three non-fungal allergens determined by allergen-specific HIA. Indoor Air 24(4), 438-445. [In English]

Soleimani Z, Goudarzi G, *et al.* (2013) Determination of culturable indoor airborne fungi during normal and dust event days in Ahvaz, Iran. Aerobiologia 29(2), 279-290. [In English]

Taubel M, Karvonen AM, Reponen T, Hyvarinen A, Vesper S, Pekkanen J (2015) Application of the Environmental Relative Moldiness Index in Finland. Appl Environ Microbiol. [In Eng]

Terčelj M, Salobir B, Harlander M, Rylander R (2011) Fungal exposure in homes of patients with sarcoidosis - An environmental exposure study. Environmental Health: A Global Access Science Source 10(1). [In English]

Vesper S (2011) Traditional mould analysis compared to a DNA-based method of mould analysis. Critical Reviews in Microbiology 37(1), 15-24.

Viegas C, Almeida-Silva M, Gomes AQ, Wolterbeek HT, Almeida SM (2014) Fungal contamination assessment in Portuguese elderly care centers. J Toxicol Environ Health A 77(1-3), 14-23.

Yoon KY, Park CW, Byeon JH, Hwang J (2010) Design and application of an Lnertial Lmpactor in combination with an ATP bioluminescence detector for in situ rapid estimation of the efficacies of air controlling devices on removal of bioaerosols. Environmental Science and Technology 44(5), 1742-1746. [In English

Annexe 9 : Classification du niveau de preuve retenue par l'IOM en 2004 et reprise par l'OMS en 2009 sur l'association entre l'exposition aux moisissures et la survenue d'effets sur la santé.

Classification du niveau de preuve
Preuves suffisantes d'une relation de cause à effet *Les preuves disponibles sont suffisantes pour conclure qu'un lien de causalité existe entre la présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements intérieurs humides et l'effet observé ; cela signifie que l'exposition peut être responsable de l'effet en question, à minima chez certaines personnes, dans certaines circonstances.* *Les critères suivants doivent être satisfaits : force de l'association, relation dose-effet, plausibilité et cohérence biologique de l'association, temporalité de l'association.*
Preuves suffisantes pour établir une association *Les preuves disponibles sont suffisantes pour conclure qu'il existe une association entre la présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements intérieurs humides et l'effet en question ; le rôle du hasard, des biais et des facteurs de confusion dans l'association observée a pu être exclu avec un niveau de confiance suffisant.*
Preuves limitées suggérant une association *Les preuves disponibles suggèrent l'existence d'une association entre la présence de moisissures ou d'autres agents dans les environnements intérieurs humides et l'effet en question ; le niveau de preuve est limité par le fait que le rôle hasard, des biais et facteurs de confusion dans l'association observée ne peut être exclu avec suffisamment de confiance.*
Preuves inadéquates ou insuffisantes pour établir une association *Les études disponibles sont de qualité insuffisante, manquent de cohérence ou présentent une puissance statistique trop faible pour permettre de conclure quant à l'existence ou non d'une association. Voire, aucune étude de l'association en question n'existe.*

Annexe 10 : Grille d'analyse des articles sur les effets sur la santé (Etape 3)

Epidémiologie

Types d'étude	**Population étudiée**	**Pathologie**	**Mesure**	**Commentaires**
Longitudinale, transversale ...	*Effectif (n=)*	*Nature de la pathologie*	*X*	

Toxicologie par inhalation

Objectifs de l'étude	**Espèce(s) de moisissure(s) ou élément(s) fongique(s) étudié(s) ;**	**Animaux testés**					**Paramètres d'exposition**			**Observations / Paramètres analysés**	**Effets observés – toxicité**	**Conclusions des auteurs**	**Commentaires et conclusions du relecteur**
	Stachybotrys, Beta-glucanes, COVm...	*Espèce*	*Age - poids*	*Sexe*	*Nombre d'animaux par lot*	*Groupe témoin? (nombre d'animaux)*	*Voie d'exposition*	*Fréquence et durée de l'exposition*	*Doses / concentrations d'expositions*	*marqueurs biochimiques et/ou cellulaires d'inflammation; marqueurs de lésions (pulmonaires ou autres...) ; mesure de la clairance...*			

Annexe 11 : Référence bibliographique relative à d'autres pathologies telles que des dermatites atopiques, des effets oculaires (*fungal corneal ulcers*), des cancers, des troubles coronariens, un dysfonctionnement des cordes vocales, une obstruction des voies aériennes et des décès non développées dans le cadre de la présente expertise.

I. J. Wang;Y. L. Guo;H. J. Weng;W. S. Hsieh;Y. L. Chuang;S. J. Lin;P. C. Chen 2007 Environmental risk factors for early infantile atopic dermatitis Pediatric Allergy and Immunology

H. J. Wen;P. C. Chen;T. L. Chiang;S. J. Lin;Y. L. Chuang;Y. L. Guo 2009 Predicting risk for early infantile atopic dermatitis by hereditary and environmental factors British Journal of Dermatology

S. Seo;Y. Han;J. Kim;J. T. Choung;B. J. Kim;K. Ahn 2014 Infrared camera-proven water-damaged homes are associated with the severity of atopic dermatitis in children Ann Allergy Asthma Immunol

X. J. Wen;L. Balluz 2011 Association between presence of visible in-house mold and health-related quality of life in adults residing in four U.S. states Journal of Environmental Health

Y. C. Tsao;Y. H. Hwang 2013 Impact of a water-damaged indoor environment on kindergarten student absences due to upper respiratory infection Building and Environment

A. S. Claeson;S. Nordin;A. L. Sunesson 2009 Effects on perceived air quality and symptoms of exposure to microbially produced metabolites and compounds emitted from damp building materials Indoor Air

S. Ukawa;A. Araki;A. Kanazawa;M. Yuasa;R. Kishi 2013 The relationship between atopic dermatitis and indoor environmental factors: A cross-sectional study among Japanese elementary school children International Archives of Occupational and Environmental Health

A. Alomar 2012 Can microbial superantigens influence atopic dermatitis flares? Chem Immunol Allergy

K. J. Cummings;J. N. Fink;M. Vasudev;C. Piacitelli;K. Kreiss 2013 Vocal Cord Dysfunction Related to Water-Damaged Buildings Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice

A. M. Madsen;K. Tendal;T. Thilsing;M. W. Frederiksen;J. Baelum;Jø V. Hansen 2013 Fungi, β-glucan, and bacteria in nasal lavage of greenhouse workers and their relation to occupational exposure Annals of Occupational Hygiene

C. W. Chang;Y. H. Hwang;Z. C. Chen;C. K. Ho;M. Y. Chen 2007 Characteristics of fungal flora in onion farmlands with potential link to human mycotic keratitis Toxicological and Environmental Chemistry

A. Laakkonen;P. K. Verkasalo;A. Nevalainen;T. Kauppinen;P. Kyyrönen;E. I. Pukkala 2008 Moulds, bacteria and cancer among Finns: An occupational cohort study Occupational and Environmental Medicine

E. L. Lloyd;C. McCormack;M. McKeever;M. Syme 2008 The effect of improving the thermal quality of cold housing on blood pressure and general health: A research note Journal of Epidemiology and Community Health

M. Michallet;T. Bénet;M. Sobh;S. Kraghel;M. El Hamri;G. Cannas;F. E. Nicolini;H. Labussière;S. Ducastelle;F. Barraco;X. Thomas;Y. Chelghoum;M. C. Nicolle;A. L. Bienvenu;F. Persat;F. De Monbrison;S. Picot;P. Vanhems 2012 Invasive aspergillosis: An important risk factor on the

short- and long-term survival of acute myeloid leukemia (AML) patients European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

Annexe 12 : Description des données épidémiologiques dans lesquelles a été caractérisé les genres ou espèces fongiques par analyse par culture

Auteurs	Année	Nom du journal/ conférence	Type d'étude	Effectif	Localisation	Méthode de mesure des moisissures									
						Type de prélèvement	Appareil	Volume prélevé (temps de prélèvement)	Milieux de culture	Température et durée d'incubation	Niveaux mesurés				
											Flore totale	*Penicillium*	*Aspergillus*	*Cladosporium*	*Alternaria*	Autres
Zhang *et al.*	2013	Indoor and Built Environment	Transversale	376 enfants (275 plvts en hiver, 200 en été)	Australie	Air (8 classes dans chaque école, 1 plvt été + 1 plvt hiver (chaque fois en duplicat))	Impacteur Andersen N6	56,6L (prélèvement de 2 min)	Malt-Chloramphénicol	Minimum 96h à 21°C	**Hiver :** Moy 344,8 CFU/m3, Médiane 282,7 CFU/m3, **Eté :** Moy 346,2 CFU/m3, Médiane 318,1 CFU/m3	**Hiver :** Moy 83,1 CFU/m3, Médiane 53 CFU/m3, **Eté :** Moy 119 CFU/m3, Médiane 106 CFU/m3	***ASPERGILLUS NIGER* : Hiver :** Moy 46,4 CFU/m3, Médiane 17,7 CFU/m3, **Eté:** Moy 34 CFU/m3, Médiane 17,7 CFU/m3	**Hiver :** Moy 51,6 CFU/m3, Médiane 35,3 CFU/m3, **Eté:** Moy 130,6 CFU/m3, Médiane 106 CFU/m3	**Hiver :** Moy 25,1 CFU/m3, Médiane 17,7 CFU/m3, **Eté:** Moy 20,2 CFU/m3, Médiane 8,8 CFU/m3	ND
Ceylan *et al.*	2006	Journal of asthma	Cas-témoin	127 asthmatiques et 115 témoins	Turquie	Air (n=1/ logement)	Impacteur AirIdéal (BioMérieux)	150L (prélèvement de 1,5 min)	Sabouraud et Malt	25°C 7-10j	Moyenne 36,1 (asthmatiques) vs 34,7 CFU/m3 (témoins) OU 36,8 (rhinite) vs 34,5 CFU/m3 (témoins)	ND	ND	ND	ND	ND
Zuraimi *et al.*	2009	Atmospheric Environment	Transversale	28 centres de soins pour enfants	Singapour	Air (n=2-4/ logement, en triplicat)	Impacteur Andersen N6	56,6L (prélèvement de 2 min)	Rose Bengal Agar (RBA +0,5% streptomycine)	Température ambiante (25°C) 5j	Sifflements: 1113 (faible prévalence) vs 1998 CFU/m3 (haute prévalence sifflements) ; Rhinite: 991 (faible prévalence) vs 1652 CFU/m3 (haute prévalence rhinite)	Moy. Géom. 485,35 CFU/m3	Moy. Géom. 99,12 CFU/m3	Moy. Géom. 31,20 CFU/m3	Non détecté	Moy. Géom. Geotrichum: 463,23 CFU/m3, Mycélium stérile: 1217,22 CFU/m3
Holme *et al.*	2010	Indoor Air	Cas-témoin	198 enfants asthmatiques et 202 contrôles	Suède	Air (cuisine, salon, chambre de l'enfant mais uniquement chambre prise en compte)	Impacteur MicroBio2	100L	Malt et DG18	22°C 5-7 jours	Médiane 90,9 CFU/m3. Comparaisons cas/contrôles pour Asthme, Rhinite, Eczéma et tout (les 3) : **1) DG18 :** Médiane 91, 98, 116, et 96 (respectivement) vs 91, Moy 212, 241, 228, et 230 (resp) vs 199, 95% 634, 812, 668, et 634 (resp) vs 680. **2) Malt :** Médiane 124, 111, 128, et	Médiane 55,6 CFU/m3. Comparaisons cas/contrôles pour Asthme, Rhinite, Eczéma et tout (les 3) : **1) DG18 :** Médiane 66, 56, 56 et 56 (respectivement) vs 45, Moy 104, 102, 101, et 104 (resp) vs 119, 95% 491, 572, 419, et 449 (resp) vs 529. **2) Malt :** Médiane 45, 45, 45 et 45	Médiane 35,2 CFU/m3. Comparaisons cas/contrôles pour Asthme, Rhinite, Eczéma et tout (les 3) : **1) DG18 :** Médiane 38, 50, 66 et 45 (respectivement) vs 40, Moy 113, 137, 141 et 112 (resp) vs 128, 95% ?, ?, ? et 891 (resp) vs 726. **2) Malt :** Médiane 81, 102, 76, et 66	Médiane 50,5 CFU/m3. Comparaisons cas/contrôles pour Asthme, Rhinite, Eczéma et tout (les 3) : **1) DG18 :** Médiane 56, 56, 56 et 56 (respectivement) vs 45, Moy 92, 95, 97 et 142 (resp) vs 125, 95% 346, 380, 413 et 356 (resp) vs 262. **2) Malt :** Médiane 45, 45, 50 et 45	ND	ND

Auteurs	Année	Nom du journal/ conférence	Type d'étude	Effectif	Localisation	Méthode de mesure des moisissures										
						Type de prélèvement	Appareil	Volume prélevé (temps de prélèvement)	Milieux de culture	Température et durée d'incubation	Niveaux mesurés					
											Flore totale	*Penicillium*	*Aspergillus*	*Cladosporium*	*Alternaria*	Autres
											112 (respectivement) vs 108, Moy 168, 183, 177, et 168 (resp) vs 188, 95% 521, 575, 520 et 523 (resp) vs 606.	(respectivement) vs 56, Moy 95, 95, 93, et 96 (resp) vs 106, 95% 449, 459, 447 et 432 (resp) vs 499.	(respectivement) vs 38, Moy 229, 315, 207, et 172 (resp) vs 57, 95% ND.	(respectivement) vs 35, Moy 70, 83, 85 et 77 (resp) vs 100, 95% 231, 250, 259 et 216 (resp) vs 225.		
Rosenbaum *et al.*	2010	Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology	Longitudinale	103 enfants de mère asthmatique	USA (New York)	Air (n=3/ logement)	Impacteur Andersen N6	ND (prélèvements de 3 ou 6 min)	Malt	Température ambiante 2-3j et 7-10j	56-4770 CFU/m3	0-1270 CFU/m3	0-2604 CFU/m3	0-1715 CFU/m3	0-191 CFU/m3	*Acrodontium* 0-478 CFU/m3
Sharma *et al.*	2011	Medical Mycology	Transversale	84 enfants (3-16 ans) avec symptômes respiratoires (asthme, rhinite allergique)	Inde	Air (chambre et extérieur +/- salon et autres pièces)	Impacteur Andersen N6 puis Burkard à 2 semaines (sur lames)	Andersen : prélèvement de 5 min ; Burkard : non précisé	Sabouraud+Rose Bengal	28°C pendant au moins 3-4 jours	ND (données intérieur-extérieur et prélèvements Andersen Bukard mélangées) (Rem : jusqu' à 12 484 CFU/m3)	ND (données intérieur-extérieur et prélèvements Andersen Bukard mélangées)	ND (données intérieur-extérieur et prélèvements Andersen Bukard mélangées)	ND (données intérieur-extérieur et prélèvements Andersen Bukard mélangées)	ND (données intérieur-extérieur et prélèvements Andersen Bukard mélangées)	ND (données intérieur-extérieur et prélèvements Andersen Bukard mélangées)
Meng *et al.*	2012	Clinical and Experimental Allergy	Cas-témoin	88 logements d'enfants athmatiques, 85 logements contrôles	USA	Air (4/logement : pièce de vie, chambre de l'enfant, cave, extérieur)	Allergenco MK-3	150L (prélèvement de 10 min)	NA (comptage microscopique)	NA (comptage microscopique)	Asthmatiques vs non asthmatiques: 6,45 vs 5,83 (ln) spores	Asthmatiques vs non asthmatiques: 5,89 vs 4,74 (ln) spores		Asthmatiques vs non asthmatiques: 5,61 vs 5,06 (ln) spores	Asthmatiques vs non asthmatiques: 3 vs 2,95 (ln) spores	Données disponibles pour Ascospores, Basidiospores, Myxomycètes, Epicoccum, Pithomyces,…
Liu *et al.*	2014	Building and Environment	Cas-témoin	12 cas (asthme, pneumonie, toux sèche) et 12 logements contrôles appariés (localisation, construction occupants)	Chine	Air (6/logement)	Impacteur Andersen N6	84,9L (prélèvement de 3 min)	Malt	25°C 7 jours	Cas vs contrôle : Moyenne 674 vs 454 CFU/m3 ; Médiane 686 vs 433 CFU/m3 ; 5%-95% 456-876 vs 389-514 CFU/m3	ND	ND	ND	ND	ND
Ceylan *et al.*	2013	Journal of Research in Medical Sciences	Transversale	66 asthmatiques et 35 contrôles	Turquie	Air (salon : 1/logement?)	Air Ideal (BioMérieux)	150 ml (ou L??)	Sabouraud	25°C 7-10 jours	Moyenne 35,9 (asthmatiques) vs 34,3 CFU/m3 (témoins)	ND	ND	ND	ND	ND

Auteurs	Année	Nom du journal/ conférence	Type d'étude	Effectif	Localisation	Méthode de mesure des moisissures										
						Type de prélèvement	Appareil	Volume prélevé (temps de prélèvement)	Milieux de culture	Température et durée d'incubation	Niveaux mesurés					
											Flore totale	*Penicillium*	*Aspergillus*	*Cladosporium*	*Alternaria*	Autres
Laakkonen *et al.*	2008	Occupational and Environmental Medicine	Cohorte	37 969 cas de cancer du poumon parmi des employés exposés aux moisissures et bactéries	Finlande	Pas de prélèvements : index calculé d'après des données théoriques d'exposition professionnelle (matrice)										

Auteurs	Année	Nom du journal/ conférence	Relation dose-réponse							Commentaires
			Pathologies, signes cliniques	Relation flore totale-effet clinique	Relation espèces spécifiques-effet clinique					
					Penicillium	*Aspergillus*	*Cladosporium*	*Alternaria*	*Autres*	
Zhang *et al.*	2013	Indoor and Built Environment	Obstruction nasale mesurée par "rhinométrie acoustique" (ajustement sur les sifflements, rhume des foins, atopie, tabagisme passif, et "mold patch at home")	NS	Association faible (p=0,043)	**ASPERGILLUS NIGER:** Association faible (p=0,034)	NS	Association *A. alternata* et diminution de la perméabilité nasale (nasal cross-sectional area, P=0,001 et volume nasal, P=0,026)	ND	Relation entre l'exposition fongique (Total, et pour 4 genres) et sympômes de santé. Pas assez de données sur la caractérisation de l'exposition dans l'étude de la relation. (individual exposure - log values of fungus levels)
Ceylan *et al.*	2006	Journal of asthma	Asthme, rhinite allergique	NS	ND	ND	ND	ND	ND	Moyenne CFU/m3 faibles (env 34-38 CFU/m3) et peu de différences entre les groupes…
Zuraimi *et al.*	2009	Atmospheric Environment	Sifflements, rhinite	P=0,008 et P=0,005	NS	NS	NS	NS	Rhinite : p<0,10 pour *Geotrichum* (prévalence faible vs haute)	Geotrichum et mycélium stérile=71,5% de la flore totale cultivable (biais milieu de culture probable)
Holme *et al.*	2010	Indoor Air	Asthme, rhinite , eczéma	NS	NS	NS	NS	ND	ND	Intéressant pour la description de la mesure des moisissures visibles. Pas d'association mesure moisissures-présence de moisissures visibles, ni des ces 2 indicateurs avec les symptômes cliniques
Rosenbaum *et al.*	2010	Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology	Sifflements	NS	P≤0,05	P≤0,05	P≤0,05	NS	*Acrodontium* P≤0,05	Genre Acrodontium??
Sharma *et al.*	2011	Medical Mycology	Prick test (et IgE)	Pourcentage d'enfants avec Prick test positif (1+ à 3+) plus élevé dans les logements avec concentrations élevées de A. flavus, A. nidulans, Alternaria et Penicillium, par rapport aux logements avec des concentrations fongiques intermédiaires (25-75ème percentile) ou faibles (<25ème percentile). Mais le pourcentage d'enafnts avec des réactions cutanées marquées (>=2+) est plus élevé dans les logements avec des concentrations élevées de A. fumigatus, A. nidulans, Penicillium et Mucor et des concentrations intermédiaires d'Alternaria et Cladosporium. Pas d'association A. niger ou A. flavus avec Prick test positif. **La meilleure association positive entre les concentrations intérieures de Penicllium et Prick test positif + tendance association concentrations élevées de moisissures et Prick test positif (NS)**						Méthologie pas très claire (2 prélèvements indoor mai comment sont-ils pris en compte?). Pas de données détaillées des concentrations mais analyse intéressante en fonction de la répartition des concentrations fongiques dans la population étudiée.

Auteurs	Année	Nom du journal/ conférence	Relation dose-réponse							Commentaires
			Pathologies, signes cliniques	Relation flore totale-effet clinique	Relation espèces spécifiques-effet clinique					
					Penicillium	*Aspergillus*	*Cladosporium*	*Alternaria*	*Autres*	
Meng *et al.*	2012	Clinical and Experimental Allergy	Asthme	p<0,01	p=0,07 mais <0,04 si ajusté sur concentrations extérieures		p=0,01 (0,17 si ajusté sur concentrations extérieures)	NS	*Epicoccum*: P<0,05, *Pithomyces*: P<0,01 Ascospores, p=0,0001, Basidiospores : p=0,01	Si P ajusté sur les concentrations extérieurs, la différence est significative pour Asp/Pen. Elle le reste pour Basidiospores et Epicoccum (mais pas flore totale, Ascospores et Pithomyces)
Liu *et al.*	2014	Building and Environment	Maladie respiratoire (asthme, pneumonie, toux sèche)	p<0,01	ND	ND	ND	ND	ND	La proportion d'Aspergillus est significativement plus élevée, et celle de Cladosporium plus faible dans les logements de patients avec maladie respiratoire. Le pourcentage de détection d'Alternaria est significativement plus élevé dans les logements des cas vs témoins (68% vs 32%).
Ceylan *et al.*	2013	Journal of Research in Medical Sciences	Asthme	NS	ND	ND	ND	ND	ND	Peu de données.
Laakkonen *et al.*	2008	Occupational and Environmental Medicine								

Annexe 13 : Synthèse du rapport du Nordic Expert Group (NEG)

2/ Recensement des effets sanitaires

- **Effets chez l'animal :**

  Prise en compte des niveaux de doses

- Inclusion des études décrivant des expositions par voie respiratoire aux spores totales
- Pour chaque étude sélectionnée, expression des niveaux de doses en **nombre de spores/g de poids corporel** (recalcul par le NEG des doses d'exposition pour avoir une unité commune)

  Effets d'une exposition unique

- Observation de marqueurs d'inflammation dans le LLBA (liquide de lavage broncho-alvéolaire) et le tissu pulmonaire, de modification de la fonction pulmonaire et de décès après exposition des animaux à diverses sp fongiques et d'actinomycètes
- La plupart des effets observés étaient transitoires
- A. fumigatus et S. chartarum toxinogène sont responsables des réponses les plus fortes
- Des relations dose-effet ont été démontrées dans plusieurs études, pour différentes sp, principalement concernant la présence de cellules et marqueurs de l'inflammation dans le LLBA et le tissu pulmonaire
- Mais : la RDR observée dans certaines études est artificielle puisqu'elle est due à une agrégation locale des spores après instillation intra trachéale

  Effets d'une exposition court terme à des doses répétées

- L'exposition répétée induit des modifications inflammatoires long-lasting dans le LLBA, le tissu pulmonaire et le sang
- Observation de différences de réponses en fonction des sp (dues en partie à la présence de mycotoxines, sont observées) et de RDR
- Observation de réactions allergiques aux spores de différentes sp; les spores viables induisent une réaction allergique au contraire des spores non-viables
- Observation d'un LOAEL de 7.10^5 pour les spores d'*A. fumigatus* (58)

  Limites des données chez l'animal

- Certains auteurs recommandent de ne pas extrapoler des RDR à partir d'études chez l'animal exposés par instillation intratrachéale car les instillations intratrachéales peuvent potentiellement entrainer une augmentation des concentrations pulmonaires (X4) comparativement à une exposition par inhalation et des surcharges locales de dose
- La structure trachéo-bronchique et les dimensions des poumons humains diffèrent de celles des rongeurs testés dans les études
- Les comparaisons inter-études sont difficiles compte tenu des différences méthodologiques
- **Effets chez l'Homme :**

- Revue des études présentant des informations quantitatives sur l'exposition aux spores (méthodes par culture et microscopie) : multiplication par 10 des niveaux de spores mesurés par culture pour estimer les niveaux de spores aéroportées
- Inclusion des études épidémiologiques → distinction des populations fortement exposées et des populations avec des expositions communes des environnements intérieurs
- Exclusion des études utilisant les IgG pour évaluer l'exposition
- Inclusion des études de provocation chez l'Homme utilisant des extraits fongiques

Description des effets observés dans les études :

- Irritation, sensibilisation, effets d'une exposition unique, effets d'une exposition à court terme, effets d'une exposition à long terme
- Aucune étude disponible quant aux effets génotoxiques, cancérogènes et reprotoxiques

3/ Etablissement d'une relation Dose Réponse

- **Extrapolation à partir des études animales**
- Exclusion des études pour des expositions par inhalation intra trachéale
- Exclusion des études par inhalation pour lesquelles la dose était estimée par dénombrement des colonies viables à court terme dans le tissu pulmonaire (4h après l'exposition)
- Prise en compte des **différences entre les poumons humains et les poumons des animaux** testés (structure trachéo-bronchique et dimensions des poumons). Sur la base de différents modèles de dépôt dans les voies respiratoires, il est estimé que le niveau d'exposition appliqué chez l'animal doit être multiplié par un facteur de 0,003 à 0,2 par nombre de particules par alvéole et par 1 à 7 pour la masse de particules par unité de surface, pour les particules dont la taille va de 0,3 à 6 µm
- **Extrapolation à partir des tests de provocation chez l'Homme**
- Extrapolation de la dose inhalée pendant quelques minutes en une concentration d'exposition sur 8h au poste de travail
- **Effets liés à une exposition court terme**
- Animal
    - Exposition cochons d'Inde spores aéroportées (4 moisissures et 2 actinomycètes) 4h/j, pendant 1 jour ou 5 jours par semaines pendant 3 et 5 semaines
    - LOAEL inflammation pulmonaire : 7.10^5 spores/m^3 (*A. fumigatus*) / 4.10^5 spores/m^3 (rapporté sur 8h d'exposition)
  - Tests de provocation chez l'Homme
    - LOAEL > 1.10^4 et 2.10^4 spores /m^3 *Penicillium* spp. et *Alternaria alternata*
    - Niveaux induisant une obstruction significative des voies aériennes chez patients asthmatiques allergiques à ces moisissures
    - NOAEL 8.10^3 spores /m^3 *P. chrysogenum*
    - NOAEL 4.10^3 spores /m^3 *Trichoderma harzianum*
    - Employés avec SBM
    - Des niveaux plus élevés ont été relevés chez des travailleurs présentant des PHS, mais les tests de provocation n'ont été réalisés qu'avec une seule dose
- Etudes épidémiologiques

- Etudes épidémiologiques considérant des effets sur la fonction pulmonaire, les marqueurs de l'inflammation respiratoire
- Etudes pour lesquelles les symptômes sont rapportés le même jour que les mesures d'exposition
- Distinction environnements fortement contaminés/environnements intérieurs communs

- Effets liés à une exposition long terme
  - Résultats des études transversales

4/ Conclusions

- Différence dans le potentiel inflammatoire entre les espèces fongiques
- Prédominance des réponses non-allergiques après exposition à une dose unique
- Réponses allergiques néanmoins possibles, particulièrement après expo aux spores viables
- Exposition à des doses répétées induit des réponses allergiques et non-allergiques
- Les tests de provocation chez l'Homme + études épidémiologiques fournissent des preuves en faveur d'un LOAEL d'environ 105 spores / m3 pour diverses espèces fongiques dans une population non sensibilisée
- En complément, il est important d'identifier la flore fongique associée afin de détecter la présence d'espèces toxinogènes et pathogènes

Evaluations par d'autres organismes internationaux basées sur l'allergénicité des moisissures (classification non excplicitée) ou non concluantes: Russie (OELs); ACGIH (impossible de construire des TLV); Rao *et al.*

Annexe 14 : Analyse des données épidémiologiques avec une exposition quantitative aux moisissures

Auteurs	Année	Nom du journal/conférence	unité d'exposition	commentaire/seuil
Concentration dans les poussières				
H. W. Meyer;P. Suadicani;P. A. Nielsen;T. Sigsgaard;F. Gyntelberg	2011	Scandinavian Journal of Work, Environment and Health	CFU/g	3 catégories d'exposition considérées (Low level (0.83–11.4) Medium level (12.0–64.4) High level (67.7–3113.2)) et mise en relation avec les symptômes distingué en 3 groupes
H. Choi;S. Byrne;L. S. Larsen;T. Sigsgaard;P. S. Thorne;L. Larsson;A. Sebastian;C. G. Bornehag	2014	Indoor Air	CFU/g	Comparaison des distributions des niveaux fongiques (CFU/g) entre différents groupes (cas/témoins et groupe avec pathologie) (Table 4) (Test Mann–whitney).
C. Celtik;S. Okten;O. Okutan;H. Aydogdu;M. Bostancioglu;G. Ekuklu;A. Asan;M. Yazicioglu	2011	Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology	CFU/g	Relation entre les niveaux fongiques (total mold amount CFU/g (%)) et les symptômes de santé
B. Behbod;J. E. Sordillo;E. B. Hoffman;S. Datta;M. L. Muilenberg;J. A. Scott;G. L. Chew;T. A. E. Platts-Mills;J. Schwartz;H. Burge;D. R. Gold	2013	Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology	CFU/g	
B. Behbod;J. E. Sordillo;E. B. Hoffman;S. Datta;T. E. Webb;D. L. Kwan;J. A. Kamel;M. L. Muilenberg;J. A. Scott;G. L. Chew;T. A. E. Platts-Mills;J. Schwartz;B. Coull;H. Burge;D. R. Gold	2015	Clinical and Experimental Allergy	CFU/g CFU/m3	
Concentration dans l'air				
J. C. Goh;J. Juliana;O. Malina;Z. U. Ngah;O. Norhafizalena	2007	Trop Biomed	CFU/m3	Relation entre l'exposition à Penicillium et IgE sp. 2 catégories d'exposition considérées (< ou > 35 CFU/m3 = médiane - low vs High)
W. Yu;X. Pan	2007	6th International Conference on Indoor Air Quality, Ventilation and Energy Conservation in Buildings: Sustainable Built Environment, IAQVEC 2007	CFU/m3	Relation entre 4 catérogies d'exposition (1 à 4 - total fungi CFU/m3) et symptômes de santé
A. Hyvärinen;P. Kaarakainen;T. Meklin;H. Rintala;P. Kärkkäinen;M. Korppi;T. Putus;J. Pekkanen;A. Nevalainen	2009	9th International Healthy Buildings Conference and Exhibition, HB 2009	CFU/m3	2 à 3 Catégories d'exposition en fonction des espèces/genres et total mises en relation avec l'asthme dans l'enfance. 2 catégories correspondant à la détection ou non (>0)
J. M. Cox-Ganser;C. Y. Rao;J. H. Park;J. C. Schumpert;K. Kreiss	2009	Indoor Air	CFU/m3CFU/m²spores/m3	Relation entre symptômes sur le lieu de travail et quartiles d'exposition (P75 vs P25)
R. Jones;G. M. Recer;S. A. Hwang;S. Lin	2011	Indoor Air	CFU/m3 spores/m3	Catégorie d'exposition (total ou viable CFU/m3) = variable dichotomique / P85

Auteurs	Année	Nom du journal/conférence	unité d'exposition	commentaire/seuil
M. Simoni;G. H. Cai;D. Norback;I. Annesi-Maesano;F. Lavaud;T. Sigsgaard;G. Wieslander;W. Nystad;M. Canciani;G. Viegi;P. Sestini	2011	Pediatric Allergy and Immunology	CFU/m3 CE/g	Relation entre exposition (variable continue et dichotomique - 2 catégories : Elevated > 300 CFU/m3 -ref ASHRAE et < low) et symptômes de santé
S. Roussel;G. Reboux;L. Millon;M. D. Parchas;S. Boudih;F. Skana;M. Delaforge;M. S. Rakotonirainy	2012	Indoor Air	CFU/m3 CFU/m²	Relation entre exposition (variable dichotomique - 2 catégories de niveaux fongiques /170 CFU/m3 et 1 CFU/m2) et symptômes rapportés par employés de centre d'archives
J. F. Gent;J. M. Kezik;M. E. Hill;E. Tsai;D. W. Li;B. P. Leaderer	2012	Environmental Research	CFU/m3	Relation entre l'exposition aux niveaux fongiques de Penicillium et Cladosporium (2 catérogies d'exposition considéré LD et 148 CFU/m3 respectivement) et symtômes de santé (Table 6)
G. Zhang;H. Neumeister-Kemp;M. Garrett;P. Kemp;S. Stick;P. Franklin	2013	Indoor and Built Environment	CFU/m3	Relation entre l'exposition fongique (Total, et pour 4 genres) et sympômes de santé. Pas assez de données sur la caractérisation de l'exposition dans l'étude de la relation. (individual exposure - log values of fungus levels)
E. Ceylan;A. Ozkutuk;G. Ergor;M. Yucesoy;O. Itil;S. Caymaz;A. Cimrin	2006	Journal of Asthma	CFU/m3	comparaison des niveaux fongiques totaux (CFU/m3) moyens entre les 2 groupes (cas/témoins) (Chi² Test).
M. S. Zuraimi;L. Fang;T. K. Tan;F. T. Chew;K. W. Tham	2009	Atmospheric Environment	CFU/m3	comparaison des niveaux fongiques totaux (CFU/m3) moyens entre 2 groupes (low/high prevalence des symptômes (Table 2) (Test Student's t ou Kruskal–Wallis).
J. Holme;L. Hägerhed-Engman;J. Mattsson;J. Sundell;C. G. Bornehag	2010	Indoor Air	CFU/m3	comparaison des distributions des niveaux fongiques -total + espèces (CFU/m3) + index fongique reposant sur 2 catégorie d'exposition entre 2 groupes (cas/témoins) (Table 4 à 6) (Test chi² et Mann–whitney).
P. F. Rosenbaum;J. A. Crawford;S. E. Anagnost;C. J. K. Wang;A. Hunt;R. D. Anbar;T. M. Hargrave;E. G. Hall;C. C. Liu;J. L. Abraham	2010	Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology	CFU/m3	
R. Sharma;S. N. Gaur;V. P. Singh;A. B. Singh	2011	Medical Mycology	CFU/m3	Comparaison des concentrations moyennes mensuels de 3 groupes constitués à partir de 3 Catégories d'exposition (25th percentile (low count), 25th – 75th percentile (intermediate count) and 75th percentile (high count)) - relation avec la sensibilisation (SPT +). Aucune précision sur les niveaux associés aux 3 catégories d'expo. Référence 14 pour description détaillée des mesures. Pas d'explicitation des percentiles dans cette publication.
J. Meng;C. S. Barnes;L. J. Rosenwasser	2012	Clinical and Experimental Allergy	CFU/m3	Calcul OR pour la fréquence de détection en comparant les données environnementales des cas/témoins. Pour les niveaux fongiques (CFU/m3), comparaison des niveaux moyens entre les 2 groupes (cas/témoins) Test Kolmogorov-Smirnov ou t-test ou Mann-Whitney

Auteurs	Année	Nom du journal/conférence	unité d'exposition	commentaire/seuil
Z. Liu;A. Li;Z. Hu;H. Sun	2014	Building and Environment	CFU/m3	comparaison des niveaux fongiques (CFU/m3) moyens entre les 2 groupes (cas/témoins) (Wilcoxon Matched-Pairs Signed-Ranks Test).
E. Ceylan;S. Doruk;S. Genc;A. A. Ozkutuk;F. Karadag;G. Ergor;B. O. Itil;A. H. Cimrin	2013	Journal of Research in Medical Sciences	CFU/m3	Comparaison des niveaux fongiques (CFU/m3) moyens entre 2 groupes (cas-témoins) + relation entre la fréquence de symptômes asthmatique et les niveaux fongiques (moyenne +SD) test ANOVA
A. Laakkonen;P. K. Verkasalo;A. Nevalainen;T. Kauppinen;P. Kyyrönen;E. I. Pukkala	2008	Occupational and Environmental Medicine	millions CFU/m3 (calcul d'exposition - matrice emploi-exposition)	Analyse de la relation entre l'exposition professionnelle (calcul du cumul d'exposition CE sur la période de travail exprimé en millions de CFU/m3) et le risque de cancer (tout
J. L. Kim;L. Elfman;Y. Mi;G. Wieslander;G. Smedje;D. Norbäck	2007	Indoor Air	spores/m3 (CAMNEA) COVm	Exposition continue (Viable ou total molds). Relation établie pour une augmentation de 10^2 ou 10^3/m3
M. Osborne;T. Reponen;A. Adhikari;S. H. Cho;S. A. Grinshpun;L. Levin;D. I. Bernstein;G. LeMasters	2006	Pediatric Allergy and Immunology	spores/m3	Relation entre niveaux fongiques et symptômes de santé : variable continue pour total fungi et les genres les plus fréquents et catégorie d'exposition dichotomique (LD) pour ceux détecté dans 15 à 70% des logements
B. Rydjord;W. Eduard;B. Stensby;P. Sandven;T. E. Michaelsen;H. G. Wiker	2007	Scandinavian Journal of Immunology	spores/m3	Comparaison de l'exposition professionnelle de différents groupe de travailleurs en scierie (controls, and low versus high mould spore exposure among wood trimmers) (t test) et niveau d'anticorps (IgE ou IgG)
R. Dales;K. Ruest;M. Guay;L. Marro;J. David Miller	2010	Environmental Research	cm²	Surface de moisissures et composants fongiques (glucanes, ergostérol ...) et symptômes respiratoires chez l'enfant
P. D. Blanc;P. J. Quinlan;P. P. Katz;J. R. Balmes;L. Trupin;M. G. Cisternas;L. Wymer;S. J. Vesper	2013	Environmental Research	ERMI	Différences de niveaux d'exposition : comparaison des données d'une cohorte d'asthmatiques (n=139) et d'un autre cohorte de référence (n=44)
S. Vesper;C. McKinstry;R. Haugland;L. Neas;E. Hudgens;B. Heidenfelder;J. Gallagher	2008	Science of the Total Environment	ERMI	Comparaison des ERMI (indice fongique) entre différents groupes (Asthmatique avec graduation et non asthmatiques) (Table 2) (Test Wilcoxon Rank-sum p value).
T. Reponen;S. Vesper;L. Levin;E. Johansson;P. Ryan;J. Burkle;S. A. Grinshpun;S. Zheng;D. I. Bernstein;J. Lockey;M. Villareal;G. K. Khurana Hershey;G. Lemasters	2011	Annals of Allergy, Asthma and Immunology	ERMI	
T. Reponen;J. Lockey;D. I. Bernstein;S. J. Vesper;L. Levin;G. K. Khurana Hershey;S. Zheng;P. Ryan;S. A. Grinshpun;M. Villareal;G. Lemasters	2012	Journal of Allergy and Clinical Immunology	ERMI	
M. Hulin;S. Moularat;S. Kirchner;E. Robine;C. Mandin;I. Annesi-Maesano	2013	International Journal of Hygiene and Environmental Health	ICF COVm	Relation entre exposition au moisissures (Fungal index (FI) du CSTB = ICF) et symptômes de santé. Variable binaire

Auteurs	Année	Nom du journal/conférence	unité d'exposition	commentaire/seuil
U. E. Rolle-Kampczyk;M. L. Greef;O. Manuwald;M. Rehwagen;O. Herbarth;S. W. Rder;A. Mller	2008	2nd International Conference on Environmental Toxicology, Environmental Toxicology 2008	µg/m3 COVm	Oui en théorie mais pas assez de données dans le full paper du congrès / relation entre exposition et santé--> pas de publi sur ces données d'identifié sur Scopus
P. M. Salo;S. J. Arbes Jr;M. Sever;R. Jaramillo;R. D. Cohn;S. J. London;D. C. Zeldin	2006	Journal of Allergy and Clinical Immunology	A alternata antigens µg/g	Relation entre exposition au antigène d'Alternaria dans les poussières (3 Catégories d'exposition considérant les quartiles <3,9 ; 3,9-6,27; >6,28 µg/g) (test chi²)
D. Norbäck;P. Markowicz;G. H. Cai;Z. Hashim;F. Ali;Y. W. Zheng;X. X. Lai;M. D. Spangfort;L. Larsson;J. H. Hashim	2014	PLoS ONE	CE/g	OR calculé pour une augmentation donnée de concentration pour chaque genre
A. Fairs;J. Agbetile;M. Bourne;B. Hargadon;W. R. Monteiro;J. P. Morley;R. E. Edwards;A. J. Wardlaw;C. H. Pashley	2013	Indoor Air	conidium equivalents/m3 air) and dust (conidium equivalents/mg dust),	Etude de la contamination des logements d'asthmatique et relation avec les niveaux dans les crachats et sensibilisation
G. H. Cai;J. H. Hashim;Z. Hashim;F. Ali;E. Bloom;L. Larsson;E. Lampa;D. Norbäck	2011	Pediatric Allergy and Immunology	CE/m²	Relation entre exposition (ADN fongiques en CE/m² - total, Pen/Asp, Asp, Stachy) et symptômes de santé . OR calculé pour une augmentation donnée de concentration
E. Johansson;T. Reponen;S. Vesper;L. Levin;J. Lockey;P. Ryan;D. I. Bernstein;M. Villareal;G. K. Khurana Hershey;C. Schaffer;G. LeMasters	2013	Environment International	CE/m² - Streptomycetes	Exposition au Streptomycetes considérée comme une variable continue (transformation log normale). Relation établie pour une augmentation d'une unité
M. J. Ege;M. Mayer;A. C. Normand;J. Genuneit;W. O. C. M. Cookson;C. Braun-Fahrländer;D. Heederik;R. Piarroux;E. Von Mutius	2011	New England Journal of Medicine	Détection des espèces fongiques SSCP - bands	Relation entre l'exposition fongique (Diversité, niveaux évalué en une variable dichotomique pour les 9 fungal taxa (detectable vs. nondetectable)) + comparaison entre des groupes (fermiers vs référence)
K. C. Dannemiller;M. J. Mendell;J. M. Macher;K. Kumagai;A. Bradman;N. Holland;K. Harley;B. Eskenazi;J. Peccia	2014	Indoor Air	Détection des espèces fongiques operational taxonomic units (OTUs)	
A. C. Wu;J. Lasky-Su;C. A. Rogers;B. J. Klanderman;A. A. Litonjua	2010	American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine	units/g (réf 15)	
N. Y. Hsu;J. Y. Wang;H. J. Su	2010	Indoor Air	visuel	3 Catégories d'exposition établies à partir de l'observation visuelle de moisissures sur 0 à 3 murs
R. Dales;D. Miller;K. Ruest;M. Guay;S. Judek	2006	Environmental Health Perspectives	Endotoxines : EU/m3 Ergostérol: ng/m3	
J. Douwes;R. van Strien;G. Doekes;J. Smit;M. Kerkhof;J. Gerritsen;D. Postma;J. de Jongste;N. Travier;B. Brunekreef	2006	J Allergy Clin Immunol	Endotoxines : EU/g Glucanes : µg/g EPS : U/g	
Y. Y. Iossifova;T. Reponen;D. I. Bernstein;L. Levin;H. Kalra;P. Campo;M. Villareal;J. Lockey;G. K. K. Hershey;G. LeMasters	2007	Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology	m² Endotoxines : EU/g et EU/m² Glucanes : µg/g et µg/m²	

Auteurs	Année	Nom du journal/conférence	unité d'exposition	commentaire/seuil
Y. Y. Iossifova;T. Reponen;P. H. Ryan;L. Levin;D. I. Bernstein;J. E. Lockey;G. K. K. Hershey;M. Villareal;G. Lemasters	2009	Annals of Allergy, Asthma and Immunology	m² Endotoxines : EU/mg Glucanes : µg/g	
C. Tischer;U. Gehring;C. M. Chen;M. Kerkhof;G. Koppelman;S. Sausenthaler;O. Herbarth;B. Schaaf;I. Lehmann;U. Kramer;D. Berdel;A. von Berg;C. P. Bauer;S. Koletzko;H. E. Wichmann;B. Brunekreef;J. Heinrich	2011	Eur Respir J	Endotoxines : EU/m² et EU/g Glucanes : µg/m² et µg/g EPS : EPS EPSU/m² et EPS/g	

Annexe 15 : Les différents modèles d'estimation de croissance des moisissures

Dans le cadre d'une approche prédictive du développement des moisissures sur les matériaux, les scientifiques ont étudié et validé plusieurs modèles de cette croissance. Le modèle le plus simple de prédiction de croissance des moisissures se retrouve dans les isopleths (Figure 41).

La modélisation de la croissance de moisissures et de leur développement en fonction de l'humidité, de la température, du temps et du matériau est un paramètre important permettant d'évaluer la durabilité des différents matériaux de construction face à ce risque. Les modèles permettent d'évaluer le risque de présence et le développement des moisissures, mais aussi une analyse des conditions essentielles nécessaires pour le début de la croissance de celles-ci. Le modèle est aussi un outil pour simuler l'état d'avancement de la moisissure dans des conditions différentes sur les surfaces du matériau. Cela exige que les propriétés telles que la capacité hydrique, les propriétés liées au transport de l'humidité dans le matériau et à la surface soient prises en compte dans les simulations. Dans la pratique, on rencontre plusieurs paramètres affectant la croissance de moisissures, par exemple l'épaisseur des couches de matériaux combinées avec les coefficients surfaciques de transfert thermiques et de masse locaux. Issu des travaux présentés dans "Modélisation de la croissance de moisissures" (Viitanen, Vinha *et al.* 2010), le Mould Index (cf. 6.2.2.2) est un outil mathématique complet.

(Vereecken and Roels 2012) proposent une revue exhaustive des différents modèles :

- IEA Annex 14

Ce critère, le plus élémentaire, est issu des travaux de l'Annexe 14 de l'Agence Internationale de l'Energie dans les années 1990. La consigne en humidité relative est basée sur l'isopleth le plus faible pour *Aspergillus versicolor*. Une température de surface minimum est définie, indépendamment du matériau, de l'état de surface, ... La consigne peut être de 80%, 89% ou 100% pour une exposition de 1 mois, 1 semaine et 1 jour.

- *Time-of-wetness* (TOW)

La prise en compte de l'aspect dynamique peut se faire de la manière plus simplifiée au moyen de l'indice TOW (temps nécessaire pour que l'humidité relative soit supérieure à 80% avec une température de l'aire de 0°C). Une valeur de TOW inférieure à 0,5 réduit substantiellement les risques de moisissures. Toutefois, les études permettant de travailler sur le TOW se limitent à peu d'espèces de moisissures et peu de matériaux.

- *Johansson's mould growth indices*

A partir de mesures sur différents types de matériaux (inertie, couleurs, ...), Johansson *et al.* (2014) proposent plusieurs indices basés encore une fois sur l'humidité relative.

- *Fungal index*

L'indice fongique indique la capacité qu'a l'environnement à engendrer la croissance de moisissures. Étant donné que la base de données - donnant la relation entre les conditions de température et d'humidité relative et l'indice fongique - n'est pas disponible, l'indice fongique ne paraît pas intéressant dans le cadre de ce rapport.

- Modèle VTT

Le modèle VTT *(VTT Technical Research Centre of Finland, Teknologian tutkimuskeskus VTT Oy)* est un modèle de prédiction empirique développé par (Viitanen, Vinha *et al.* 2010), dans lequel le développement de la croissance est défini par le *Mould Index* (cf. 6.2.2.2). Le modèle est basé sur une régression linéaire d'un ensemble de données mesurées. Il a été amélioré récemment par les membres du VTT (Ojanen, 2011 ; Ojanen, 2010). Les intervalles sont compris entre 0 (aucun développement) et 6 (moisissures très développées et couvrant la totalité du matériau) et peuvent être utilisés comme un critère de conception. Ainsi un *Mould Index* égal à 1 est défini comme la

valeur maximum tolérable : moment à partir duquel le processus de germination est supposé commencer.

Malgré des limites, le modèle WUFI-Bio développé par *VTT* semble le plus approprié pour simuler le développement de moisissures en régime dynamique. Ce modèle empirique initialement développé pour le matériau bois a été élargi aux autres matériaux suivant les classes proposées par Sedlbauer.

Berger (2014) suggère de retenir ce modèle pour proposer un indicateur de développement des moisissures (qu'il appelle indicateur de pathologies).

- Isopleth models

Etant donné que l'humidité, la température et le temps d'exposition sont les principaux facteurs liés à la croissance des moisissures, les relations entre ces facteurs et le risque de moisissures sont souvent exprimées par des courbes isoplèthes. Ces courbes séparent les conditions favorables et défavorables de T-RH pour la croissance de moisissures. Les modèles les plus simples fournissent uniquement la courbe d'état limite, les modèles plus avancés d'isoplèthes subdivisent en temps de la germination et jusqu'au taux de croissance.

Les courbes isoplèthes sont la base de l'étude du développement de modèles de moisissures.

On peut noter que cette analyse est utilisée dans le code ESP-r, utilisé au Royaume-Uni pour les calculs de thermique des bâtiments.

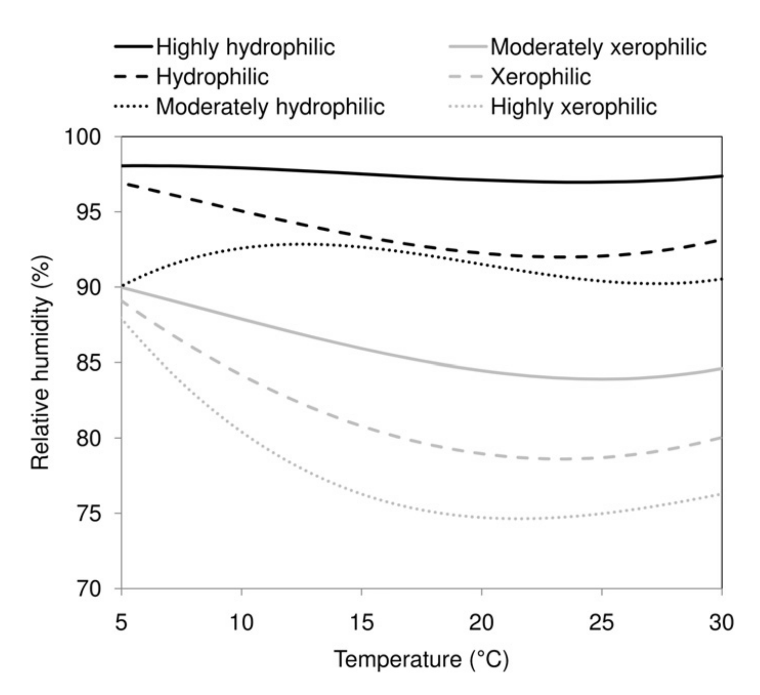


Figure 41 : Isopleth critiques pour différentes espèces fongiques (Clarke, 1999, Rowan, 1999)

Les travaux sur les isopleths de Sedblauer sont aussi à la base du modèle suivant.

- Biohygrothermal model (voir ci-dessous)

Dans ce modèle, le bilan en humidité d'une spore, qui a un certain potentiel osmotique et qui peut donc par conséquent absorber l'eau selon des conditions aux limites transitoires, est calculé. Cela signifie aussi que même un séchage intermédiaire sur les spores du champignon peut être calculé.

La plupart des moisissures sont observées dans les logements mal isolés, mais il n'est pas rare de trouver ces moisissures dans les logements récents, notamment lors de la phase de construction (humidité liée au séchage des matériaux et ventilation inexistante). Pour prédire cette croissance, des modèles ont été intégrés dans des logiciels de calcul thermique des bâtiments. Des chercheurs ont contribué au développement d'un modèle de croissance en régime non permanent

(Krus & Sedlbauer, 2007). L'intérêt de ce modèle est de prendre en compte des conditions micro-climatiques telles qu'un séchage ponctuel qui peut ralentir la croissance des spores. Le modèle s'appelle « Biohygrothermal model » et est intégré dans le logiciel WUFI[56]. Ce logiciel est couramment utilisé dans les bureaux d'études qui souhaitent étudier la propagation dynamique de l'humidité au sein des parois de bâtiments.

56 https://wufi.de/en/2014/08/11/wufi-bio/

Annexe 16 : Synthèse des étapes d'intervention des services préfectoraux, de services déconcentrés de l'Etat ou de services municipaux dans la lutte contre l'habitat indigne

- *Coordination et concertation* - pôles départementaux de lutte contre l'habitat indigne (PDLHI) créés en 2010 par circulaire dans l'objectif de coordonner les services de l'Etat dans la lutte contre l'habitat indigne. Un déploiement sur l'ensemble du territoire est noté en 2013 mais avec des situations variables d'animation et une insuffisance pour le niveau préfectoral (DIHAL, 2015). Créé en 2001, le pôle national (PNLHI) représente l'acteur pilote de la mise en œuvre de la politique de lutte contre l'habitat indigne, notamment sur les plans techniques et juridiques qui pourrait avoir un rôle de coordination entre les différentes politiques et organes ministériels.

- *Repérage* : Cette étape est considérée comme un enjeu essentiel (IGAS, 2009) avec un repérage actif. L'enquête nationale de lutte contre l'habitat indigne (EHI) met en avant un dispositif classique présent dans 80 départements sur 101 en 2013 dont la mise en place par le PDLHI est recommandée pour la centralisation des signalements. Les travailleurs sociaux des collectivités et les acteurs municipaux dont les centres communaux d'action sociale (CCAS) lorsqu'ils existent sont fortement mobilisés dans le signalement (DIHAL, 2015).

Le croisement des chiffres sur le nombre de logements indignes et les signalements montre des décalages laissant une marge de progrès réelle (IGAS, 2009 ; Fondation Abbé Pierre, 2016). Les observatoires permettant l'identification des logements considérés comme indigne sont encore peu présents au niveau départemental (31 sur 37 départements en 2013) devant être remplacés par l'outil Observatoire de repérage et de traitement de l'habitat indigne (ORTHI) déployé en 2013 (DIHAL, 2015).

- *Prise d'arrêtés et contrôle* : instruction relevant selon les cas des ARS ou des SCHS (champs de compétences partagés avec des lignes de partage des responsabilités fluctuantes) (IGAS, 2011). Depuis plus de 10 ans, une mobilisation accrue des acteurs sur la lutte contre l'habitat indigne est constatée avec une augmentation des procédures engagées : un total 2842 arrêtés préfectoraux dont 1230 pour insalubrité, 663 impropres à l'habitation en 2013 contre moins de 1000 au total dont moins de 600 pour insalubrité avant 2004. La question de la présence de moisissures a été posée pour la 1ère fois dans le cadre de l'EHI en 2013 faisant ressortir ce critère dans les motifs de l'insalubrité avec une répartition géographique variable (DIHAL, 2015).

Les SCHS sont chargés de l'application des dispositions relatives aux règles d'hygiène relevant de la compétence des autorités municipales, par le biais d'inspecteurs de salubrité, assermentés, effectuant des visites à domicile. Ils sont plus de 200, représentants 76 départements inégalement répartis (IGAS, 2008). Leur organisation et leur financement relèvent de la compétence du Maire ou du Président de l'EPCI. Certains services exercent également de manière dérogatoire des missions relevant normalement de l'Etat. Les données partielles recueillies dans l'EHI pour les procédures des mairies indiquent une augmentation conséquente des arrêtés de péril en 2013 (+54%) (DIHAL, 2015).

L'outil ORTHI mutualisant les données communales et départementales devrait permettre une meilleure visibilité dans le futur.

Planification ou Financement : l'Agence nationale pour l'amélioration de l'habitat (Anah) et l'agence nationale pour la rénovation urbaine (ANRU) financent à des échelles différentes l'amélioration de l'habitat ; la première avec des aides aux travaux des propriétaires mais aussi un soutien financier des collectivités en lien avec différents opérations et la seconde sur des projets globaux de rénovation urbaine dans les zones urbaines sensibles (ZUS) et dans les quartiers présentant les mêmes difficultés socio-économiques.

Bibliographie

CGPC (2007) Rapport sur lea lutte contre l'habitat indigne. Rapport conjoint CGPC n° 004886-01, IGA n° 07-017-01, IGAS n° RM 2007-058P, Dominique Ducos-Fonfrède, Claude Hossard, Roger Marion, Xavier Prétot Philippe Blanchard. Conseil général des ponts et chaussée, Inspection générale de l'administration, Inspection générale des affaires sociales. 79 pages.

IGAS (2009) Evaluation du fonctionnement des services communaux d'hygiène et de santé, I. Massin, H.de Coustin, G. Laurand, A. Merloz, La documentation française, Inspection générale de l'administration; Inspection générale des affaires sociales; Conseil général de l'environnement et du développement durable. Ministère de l'écologie, de l'énergie, du développement durable et de la mer. 459 pages

IGAS (2012) La mise en oeuvre par les agences régionales de santé (ARS) des politiques de santé-environnement. BUGUET Béatrice, BURSTIN Anne, DEUMIE Bertrand. Inspection générale des affaires sociales 341 pages.

Annexe 17 : Synthèse des études interventionnelles

Tableau 34 : Synthèse des données des études interventionnelles publiées depuis 2006 évaluant l'efficacité d'actions de remédiation sur la bâti

Références	Descriptif de l'étude	Effets	Intervention	Résultats
Bernstein *et al.* (2006) *J Asthma*	N= 19 enfants asthmatiques sensibilisés aux moisissures (5-11 ans) vivant dans un logement avec un système de ventilation	Fonction pulmonaire : variation du débit expiratoire de pointe	Radiation aux ultraviolets pour réduire l'exposition microbiologique sur 2 semaines	-0.068 (p = 0.03)
Lignell *et al.* (2007) *Journal of Environmental Monitoring*	N= 600 enfants par an (2 écoles, 1 avec intervention et 1 témoin) (7 à 12 ans) Suivi sur 5 ans (2 ans avant l'intervention, l'année de l'intervention, un sans grand nettoyage et 2 ans avec grand nettoyage après l'intervention)	Symptômes respiratoires et généraux renseignés par questionnaire	Rénovation profonde et installation d'un système de ventilation mécanique remplaçant la ventilation naturelle	Prévalence des symptômes plus élevée avant l'intervention et diminution après intervention 2 ans avant intervention Rhinite : ~55% vs35% (p<0.001) Toux : ~35% vs15% (p<0.001) Dyspnée : ~7% vs 2% (p<0.05) 2 ans après : Rhinite : ~45% vs 40% Toux : ~18% vs 21% Dyspnée : ~5% vs 10 % (p<0.05)
Lloyd *et al.* (2008) *Journal of Epidemiology and Community Health*	N = 36 participants (42 dans bâtiments avec intervention et 26 témoins)	Pathologie cardiaque (coronarien) - pression sanguine	Amélioration de la qualité thermique du logement pour éliminer l'humidité et moisissures	Pas de différence sur la pression sanguine avant l'intervention. Diminution de la pression sanguine (systolique et après intervention : -19.67 (IC -13.93 - -25.41) p<0.000) Différence entre les groupes : 22.44 (IC 13.77 – 31.12, p<0.000)
Mitchell *et al.* (2012) *EHP*	N =182 enfants avec un asthme modéré à sévère de la Nouvelle Orléans (4 à 12 ans). Intervention après l'Ouragan Katrina sur 2 ans (1 an avant l'intervention et 1 an après) avec évaluation clinique et du logement	Symptômes d'asthme – Maximum de symptômes par jour (MSD) Sensibilisation (IgE)	Conseiller sur l'asthme + intervention environnementale correspondant à l'utilisation de matériels fournis pour le nettoyage tels que (filtre HEPA, balai-éponge humide ou sec, couvre matelas, produits de nettoyage ...)	Diminution des symptômes : 45% (*n* = 159, MSD : –2.92 jours (CI: -3.92 – -1.26, *p* < 0.001).

Références	Descriptif de l'étude	Effets	Intervention	Résultats
Burr *et al.* (2007) *Thorax*	N=182 participants (95 dans 81 maisons dans le groupe d'intervention et 87 dans 63 maisons témoins)	Rhinite, conjonctivite et symptômes d'asthme	Utilisation fongicide et installation d'un ventilateur	A 6 mois Sifflements : différence de 25%, (3% - 47%) p = 0.028), Perception d'amélioration de respiration: 52% (30%- 74%; p<0.0001) Perception de diminution des traitements : 59% (35% - 81%; p<0.0001). A 12 mois Rhinite :24% (9- 39%; p = 0.001) Rhinoconjonctivite : 20% (5-36%; p = 0.009).
O'Sullivan *et al.* (2012) *J Asthma*	N = 12 patients	Contrôle de l'asthme : variation du débit expiratoire de pointe, sévérité de l'asthme, consultation des urgences, hospitalisations et prise de stéroides	Colmatage des fuites, lutte contre les nuisibles ou relogement	Variation du débit expiratoire de pointe : 38.6 LPM (9.9-67.3; p = .014). Sévérité de l'asthme : diminution de 2 classes - 91,7% Visite aux urgences : 91% , Hospitalisation : 91% Prise de stéroides :3/11 Diminution du dosage et nombre de médicaments
Jaakkola *et al.* (2006) *American Journal of Epidemiology*	N = 521 cas et 932 témoins Adultes (21 à 63 ans)	Cas incidents d'asthme	Rénovations dans les 12 derniers mois du domicile ou du lieu de travail	Peinture : ORa = 0.69 (IC 0.46-1.02) Pose de papier peint : ORa = 0.86 (IC 0.58-1.28) Laquage du sol : 0.92 (IC 0.49-1.75) **Utilisation de plâtre pour nivellement du plancher : 1.81 (1.06-3.08)** Autre : 0.80 (0.57-1.12)
Barnes *et al.* (2007) *Allergy and Clinical Immunology International*	Revue	Maladies allergiques	Nettoyage et désinfection	Conclusions sur le rôle majeur du nettoyage pour réduire l'exposition aux allergènes (quotidien et régulier)

NS : non significatif

Notes



Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
14 rue Pierre et Marie Curie
94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr / @Anses_fr

ISBN 979-10-286-0126-3 - Dépôt légal : novembre 2016 - © Anses Éditions : novembre 2016 - Date de publication : novembre 2016 - Couverture : Parimage (création), Anses (réalisation) - Crédit photo : Fotolia